



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Cirurgia II

Testes Autonómicos, sua Aplicabilidade Clínica e Correlação com Deiscência de Anastomose Colo-retal

André Gabriel e Silva Batista

JULHO'2017



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Cirurgia II

Testes Autonómicos, sua Aplicabilidade Clínica e Correlação com Deiscência de Anastomose Colo-retal

André Gabriel e Silva Batista

Orientado por:

Dr.^a Carla Maria de Freitas dos Santos Carneiro

JULHO'2017

1. Resumo

INTRODUÇÃO: Os avanços tecnológicos permitiram o desenvolvimento de testes autonómicos – métodos não invasivos, quantitativos e reprodutíveis que avaliam a função do sistema autónomo – que desse modo têm ganho importância como ferramenta diagnóstica e estratificadora de risco em áreas médicas e cirúrgicas, permitindo a confirmação da contribuição destes sistemas para os sintomas de disautonomia na prática clínica. A cirurgia colo-retal tem a deiscência da anastomose como uma das complicações mais prevalentes e graves, que motiva um internamento hospitalar maior para vigilância desta entidade, com semiologia de apresentação tardia e análises laboratoriais inespecíficas.

OBJETIVO: Definir um conjunto de testes autonómicos que possam ser aplicados na prática clínica, como ferramenta para diagnóstico precoce de deiscência de anastomose.

MÉTODOS: Revisão analítica do estado da arte em testes autonómicos clínicos com recurso à Pubmed, utilizando os termos “*testing the autonomic nervous system*” e “*autonomic variations in colorectal anastomotic leakage*”, publicados no período de 2003/01/01 a 2016/12/31, com restrição inicial da pesquisa a artigos de revisão, e estudos em humanos, com o objetivo de determinar quais os testes autonómicos com utilidade clínica e de identificar os estudos previamente efetuados sobre a aplicabilidade destes testes na deteção precoce de complicações médicas e cirúrgicas, com particular interesse na deiscência de anastomose. Na bibliografia dos artigos selecionados identificaram-se mais artigos relevantes, sendo esta revisão analítica composta por 218 artigos.

RESULTADOS: Os testes autonómicos clínicos validados para diferentes entidades são variáveis, e sobretudo baseados em reflexos cardiovasculares. Eles subdividem-se de acordo com a componente funcional do sistema nervoso autónomo que avaliem de forma preponderante, *i.e.* função sudomotora, função cardiovagal e função adrenérgica.

DISCUSSÃO: Pode-se inferir de modo a teorizar que a avaliação do SNA através da aplicação de TA poderá ter valor diagnóstico e/ou prognóstico de DA colo-retal. Propõe-se mais investigação nesta área.

Palavras chave: testes autonómicos e deiscência da anastomose colo-retal

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

2. *Abstract*

INTRODUCTION: Modern technology has allowed autonomic testing to become readily available and fulfilling stringent criteria of non-invasiveness, quantitation, and reproducibility. They have been evermore used as a diagnostic tool in several medical and surgical areas, allowing to correlate autonomic testing with dysautonomy. Dehiscence of anastomosis is the most dread, and still highly prevalent complication of colorectal cancer resection, the landmark therapeutic response to this disease. This severe complication, in which anastomosis loses its integrity, has furthermore late symptomatology and thus far no specific laboratorial tests available. A longer than ideal stay in hospital setting, only to be maintained under medical care supervision, avoiding an even latter response in case it occurs, is therefore mandatory.

OBJETIVE: The purpose of this work was to define a setup of autonomic tests, already available to be transposed to clinical practice, to be used as a diagnostic tool, parametrizing an early, well fit, consistent, early diagnosis for dehiscence of anastomosis.

METHODS: This analytic review of the available literature on autonomic testing, including published reports from expertise of clinical autonomic physiologists associations papers extracted from literature search on autonomic nervous system testing and autonomic variations in colorectal anastomotic leakage and synonyms. Pubmed was the search engine used, with restriction for only human subject data, in reviews, from 2003 on. For our application purpose, we have focused on tests that meet the criteria of sensitivity, specificity, reproducibility, as well as noninvasiveness, and feasibility. The set of literature used in this assay is composed of 218 items, as indicated in the bibliography.

RESULTS: Clinical autonomic tests are well validated for diagnostic purposes in different entities, especially indirect tests. Autonomic tests are subdivided according to the autonomic component that they focus their evaluation, *i.e.* sudomotor function, cardiovagal function and adrenergic function.

DISCUSSION: Autonomic function evaluation thru autonomic testing can have an early diagnostic and prognostic value in colorectal anastomotic leakage. Further investigations are suggested.

Key words: autonomic tests, colorectal anastomotic leakage

The final work reflects the opinion of the author alone.

3. Índice

1. RESUMO	3
2. ABSTRACT	4
4. INTRODUÇÃO.....	6
5. MATERIAL E MÉTODOS	9
6. RESULTADOS - TESTES AUTONÓMICOS	10
TESTES À FUNÇÃO SUDOMOTORA	12
<i>Teste Quantitativo Do Reflexo Axonal Sudomotor (QSART)</i>	13
<i>Teste Da Termorregulação Do Suor (TTS)</i>	14
<i>Potenciais Cutâneos</i>	15
<i>Teste da Impressão em Silicone</i>	15
<i>Teste do Reflexo Sudomotor Direto e Indireto (QDIRT)</i>	16
TESTES À FUNÇÃO CARDIOVAGAL	17
<i>VFC com a Ventilação Profunda (VFC_{VP})</i>	18
<i>VFC com a Manobra de Valsalva (VFC&VPA_{MV})</i>	19
<i>Análise Espectral da VFC em Repouso (eVFC_{Repouso})</i>	20
<i>VFC com TILT em Ortostatismo</i>	20
TESTES À FUNÇÃO SIMPÁTICA ADRENÉRGICA	21
<i>VPA com a Manobra de Valsalva (VPA&VFC_{MV})</i>	22
<i>VPA com Tilt em Ortostatismo (VPA_{Tilt})</i>	23
<i>Teste de Força Isométrica Prolongada</i>	25
<i>Teste da Imersão</i>	25
<i>Avaliação da Noradrenalina Plasmática (NE_P)</i>	26
<i>Captação Cardíaca de Iodo-123 Meta-Iodobenzilguanidina ([¹²³I]MIBG)</i>	27
OUTROS TESTES AUTONÓMICOS	28
<i>Teste da Sensibilidade Do Baroreflexo</i>	28
<i>Microneurografia Simpática</i>	29
7. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	31
8. BIBLIOGRAFIA	33

4. Introdução

O sistema nervoso autónomo (SNA) tem um papel fulcral na manutenção da homeostasia do organismo. Qualquer fator que provoque um desequilíbrio em determinado órgão ou sistema desencadeia automaticamente respostas orgânicas involuntárias, dependentes do SNA, com o objetivo de reverter o desequilíbrio e restabelecer a homeostasia^{1,2}.

O SNA é muito sensível e reage de forma ininterrupta e automática a estímulos internos e externos³ fisiológicos (*e.g. stress*, exercício, ortostatismo, sono ou alimentação)¹⁻³, patológicos (*e.g. co-morbilidades*), ou iatrogénicos (*e.g. fármacos ou cirurgias*) e a sua resposta depende também de fatores como o género sexual ou a idade⁴⁻⁸.

O padrão de variação do SNA é diferente em pessoas saudáveis e em doentes. Existem padrões dependentes de determinada expressão genética (*e.g. a expressão do gene fosducina parece aumentar a atividade simpática condicionando hipertensão induzida por stress*)⁹. O envelhecimento, por exemplo, acompanha-se de uma redução da variabilidade da frequência cardíaca *beat-to-beat* (VFC) e por outro lado esta variabilidade é maior no género feminino do que no masculino⁹⁻¹¹.

O SNA inerva quase todos os órgãos. Em termos funcionais pode ser dividido na sua componente adrenérgica (sistema nervoso simpático - SNS) e na sua componente colinérgica (sistema nervoso parassimpático - SNP), que reagem com respostas diametralmente opostas¹.

A estimulação do SNS desencadeia uma resposta *fight or flight* caracterizada pela libertação de reservas de adrenalina e noradrenalina (NE), aumento da atividade metabólica, vasoconstrição periférica, aumento da frequência cardíaca (FC), aumento da contratilidade cardíaca, dilatação pupilar e brônquica, diminuição da salivação, diminuição da motilidade gastrointestinal e relaxamento da bexiga¹².

As perturbações patológicas do SNA (disautonomias) advêm tanto de causas primárias com afeção direta do mesmo (*e.g. doença de Parkinson*), como podem ser secundárias a doenças de outros sistemas de órgãos (*e.g. diabetes mellitus*)^{1,6}. A clínica das disautonomias habitualmente é incaracterística e envolve manifestações em vários órgãos e sistemas^{1,13-22}.

A apresentação clínica das disautonomias é muito variada, pode confundir-se com outros quadros patológicos, e de diagnóstico difícil, pelo que é de extrema importância conseguir avaliar de forma objetiva e fidedigna o estado funcional do SNA^{1,12}.

Não existe uma definição consensual de testes autonómicos (TA), existem múltiplos testes para avaliar a função autonómica, habitualmente não são aplicados individualmente mas em conjuntos de TA e tidos em consideração como agregado de resultados²³.

A maioria dos estudos sobre TA recorre aos testes indiretos que medem a função autonómica através da avaliação dos reflexos cardiovasculares ou da resposta de um órgão efetor. Os testes diretos avaliam a condução nervosa autonómica diretamente e por isso são invasivos, complexos de realizar e interpretar^{2,3,24-27}.

Mais importante do que o valor absoluto de uma medição, é o padrão de variação da resposta do SNA a um estímulo que permite interpretar um teste, pois determinado padrão associa-se a determinada disautonomia^{2,3,24-27}.

A avaliação do doente com provável perturbação do SNA inicia-se com uma anamnese detalhada (com foco nos sintomas potencialmente autonómicos como a síncope, náuseas, vômitos, gastroparésia, incontinência urinária, hipohidrose, entre outros)^{1,28}, à qual se segue um exame objetivo com ênfase nos sinais de disautonomia (como a hipotensão ortostática ou a reação pupilar anormal)¹ e a aplicação de questionários como o *symptom profile* ou o *composite autonomic severity scale*.^{12,29} Com base nesta avaliação clínica é que se decide a necessidade de executar TA²⁹⁻³⁴.

Os diversos TA atualmente disponíveis permitem determinar a extensão, localização e severidade de compromisso do SNA, com maior sensibilidade do que a avaliação clínica de sintomatologia de disautonomia^{12,35,36}.

A literatura mostra a aplicabilidade dos TA como ferramenta clínica de diagnóstico devidamente validada em diferentes especialidades médicas e como factor preditivo de complicações pós-operatórias em cirurgia cardiovascular, contudo, com esta revisão da literatura não se conseguiu encontrar estudos já efetuados sobre esta aplicabilidade no contexto de cirurgia colo-retal.^{1,12,35}

A deiscência da anastomose (DA) é uma complicação pós-operatória ainda prevalente em cirurgia colo-retal, representando morbidade e mortalidades importantes. Apesar de já extensivamente estudada, nas últimas 3 décadas ainda não se conseguiu reduzir significativamente as taxas de incidência (7,5-8,7%), morbidade (56%) e mortalidade (6-22%) associadas à DA^{37,38}.

A sua semiologia de apresentação pode ser tardia e inespecífica. Os testes laboratoriais e imagiológicos utilizados para o seu diagnóstico têm ainda uma baixa sensibilidade e especificidade pelo que é importante investigar ferramentas que nos permitam estabelecer mais precocemente e de modo mais sensível e específico este diagnóstico. Também é importante descobrir modos eficazes de prevenir a DA, determinar *scores* de avaliação do risco pré-operatório bem como investigar inovações técnicas cirúrgicas^{23,37}.

A cirurgia abdominal major, mesmo quando sem complicações, representa uma agressão ao doente, pelo que gera uma desregulação transitória do SNA. Quando à agressão cirúrgica se associa uma complicação como a DA, o *stress* e alteração da homeostasia a que o doente fica submetido é maior, estimulando o SNA de um modo mais intenso e agudo.^{13,27,39}

A rapidez do SNA em detetar pequenas alterações da homeostasia e em corrigi-las^{3,35}, faz-nos levantar a hipótese de que os TA podem ser uma ferramenta capaz de realizar um diagnóstico precoce de DA.

O objetivo desta revisão analítica é assim determinar a potencial aplicabilidade da medição da variabilidade do SNA como preditora de DA.

5. Material e Métodos

Realizou-se uma revisão analítica com recurso a pesquisa à base de dados da *Pubmed* com o objetivo de identificar um conjunto de TA que possam ser utilizados como ferramenta de diagnóstico precoce de DA colo-retal.

Restringiu-se a pesquisa a artigos de revisão, estudos em humanos publicados nos últimos 15 anos, utilizando os termos da pesquisa, *testing the autonomic nervous system*.

Dos 188 artigos obtidos, avaliámos o título e o *abstract* e seleccionámos 50 artigos para leitura integral, por serem relevantes na determinação dos testes autonómicos com utilidade clínica e na identificação de estudos previamente efetuados sobre a aplicabilidade destes testes na deteção precoce de complicações médicas e cirúrgicas. Referências bibliográficas dos artigos selecionados foram inseridas nesta revisão quando relevantes.

Efetuuou-se uma pesquisa adicional recorrendo aos termos de pesquisa “*autonomic variations in colorectal anastomotic leakage*”, “*autonomic variations in anastomotic failure*”, “*autonomic variations in colorectal anastomotic dehiscence*”, “*autonomic variations in colorectal surgery*”, and “*prognostic value of cardiovascular autonomic function in surgical complications*” para identificar artigos sobre a aplicabilidade destes testes na cirurgia colo-rectal e obtivemos 7 artigos.

No total utilizou-se 218 artigos que constituem esta revisão analítica.

6. Resultados - Testes Autonómicos

Os TA são subdivididos por diversos autores como clínicos ou de investigação, por estarem já com aplicabilidade e validade comprovadas e serem praticáveis na rotina clínica de um laboratório autonómico, ou por ainda estarem em fase de investigação, validação e/ou serem muito difíceis de implementar na rotina clínica, respetivamente.^{1,35,36}

A maioria dos TA são testes indiretos, *i.e.* baseados em reflexos cardiovasculares despoletados por manobras gatilho específicas (*e.g.* VFC na ventilação profunda) e não em medições diretas da transmissão nervosa como acontece em técnicas que usam os princípios de eletromiografia (*e.g.* microneurografia)^{40,41}.

A inexistência de uma lista oficial de TA apesar de haverem diferentes revisões sobre TA, dificultou o entendimento do assunto e fez a escolha dos testes a apresentar nos resultados tornar-se mais complicada. A seleção de testes apresentados teve como propósito ter utilidade pedagógica e pertinência na definição da potencial bateria de testes para investigação futura, o que envolveu serem testes com algum tipo de validação e aplicabilidade.^{1,35,36,41,42}

Apresentou-se os resultados da revisão segundo uma adaptação das divisões consideradas mais coerentes e práticas, conforme as componentes autonómicas que avaliam (função sudomotora, função cardiovagal e função simpática adrenérgica). Abordou-se na categoria “outros testes” o teste da sensibilidade do baroreflexo (porque embora a sua análise seja complexa, é avaliado em vários testes apresentados dentro das categorias anteriores) e a microneurografia (pois é sugerido como método complementar na aplicação de alguns dos testes das categorias anteriores e porque é um método direto minimamente invasivo), tidos por alguns como testes de investigação^{12,18,35,43,36,44-50}.

A complexidade do SNA levou a que a forma mais consensual de aplicar estes testes fosse em baterias (conjuntos de testes) pois atualmente não existe evidência científica de que um teste isoladamente tenha capacidade discriminativa e precisão para avaliar determinada componente autonómica^{1,3,35,42}.

Desde a década de 70, em investigação e mais tarde na prática clínica tornou-se ordinário o uso de baterias de testes, devidamente validadas, sendo uma das mais popularizadas a de Ewing,

amplamente usada no diagnóstico de neuropatia diabética periférica. Ela engloba a avaliação da FC e da pressão arterial (PA) com várias manobras gatilho (*e.g.* a de Valsalva, a de ventilação profunda, a do *tilt* ortostático e a do exercício isométrico)^{41,42,51-53}.

O diagnóstico de neuropatia cardiovascular autonómica¹³ feito pela avaliação da função autonómica, passa pela análise da VFC no domínio do tempo e da frequência com recurso a diferentes métodos, assim como a captação cardíaca de Iodo-123 Meta-Iodobenzilguanidina¹³. A título de exemplo a VFC tem uma sensibilidade de 97,5 % de deteção de perturbação parassimpática em indivíduos com diabetes^{54,55}. A VFC com manobras como a de ventilação profunda e de Valsalva são considerados testes de rotina na avaliação da função autonómica na diabetes com uma boa sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade na gradação da disfunção autonómica⁴³.

O enorme número de variáveis que influenciam a função autonómica cria por si só uma grande dificuldade ao estabelecimento de padrões de variação autonómicos, embora exista evidência de várias patologias estarem associadas a determinados padrões de variação autonómicos (*e.g.* fibromialgia, síndrome do intestino irritável ou cistite intersticial)^{10,19,56}.

A seleção dos doentes e a ordem pela qual os testes são aplicados têm impacto nos resultados obtidos, pelo que há que estabelecer critérios de exclusão objetivos assim como a ordem dos testes, de modo a reduzir os vieses.^{12,43}

A preparação dos doentes para os testes é fundamental, da qual se realça que o doente dever-se-á abster de determinadas substâncias durante um período específico (*i.e.* comida, cafeína e nicotina 3-4 horas antes dos testes, e álcool 8 horas antes), cessar a toma de fármacos por 5 meias vidas, não deve usar roupa compressiva na manhã do dia dos testes, não ter tido uma doença aguda nas últimas 48 horas, exercício físico vigoroso ou fora do normal do doente deve ser evitado na últimas 24 horas, e deverá estar em repouso uma quantidade específica e pré-determinada de tempo numa sala em silêncio e com temperatura e humidade controláveis^{6,43,57}.

Idealmente deveria haver um laboratório autonómico completo, com as condições necessárias e acesso aos testes clínicos a ser usados, e técnicos certificados para a execução dos mesmos.^{12,36}

Atualmente os indivíduos que beneficiam da aplicação de testes autonómicos são¹²:

- Doentes com síncope para se diferenciar entre síncope neuromediada de hipotensão ortostática neurogénica e outras causas não neurológicas de síncope;
- Doentes com diabetes *mellitus* a quem a associação americana de diabetes recomenda a execução de testes autonómicos (nas suas 3 componentes principais) na altura do diagnóstico de diabetes *mellitus* 2 e cinco anos após o diagnóstico de diabetes *mellitus* 1^{54,55,58,59} pois a neuropatia cardiovascular diabética é muito prevalente⁶⁰⁻⁶² e pela relação entre disfunção autonómica e risco cardiovascular estar bem documentada o que leva à necessidade de monitorizar doentes que planeiem cirurgias major eletivas e exercício de intensidade média e alta¹²;
- Doentes com tonturas ortostáticas isto porque doentes com tonturas recorrentes quando em pé podem ter disfunção autonómica, síndrome da taquicardia postural ou outra neuropatia autonómica passível de ser tratada após diagnóstico⁶³⁻⁷⁴, sendo que os testes das 3 componentes autonómicas major são válidos para diagnóstico diferencial, definir a fisiologia da intolerância ortostática, classificar o nível de disfunção e dirigir a terapêutica¹²;
- Doentes com perturbações sudoréticas pois os testes autonómicos podem ser diagnósticos e assim permitir o tratamento da patologia de base e melhorar o prognóstico^{20,75-83}, embora os testes da componente sudomotora sejam mais direcionados para problemas com o suor, testar as 3 componentes permitirá estreitar o diagnóstico diferencial¹²;
- Doentes com neuropatia periférica de várias etiologias⁸⁴.

Testes à Função Sudomotora

A produção de suor varia com vários fatores modificáveis (*e.g.* género sexual) e outros não modificáveis (*e.g.* temperatura corporal, a temperatura ambiente, a humidade, o consumo de nicotina ou de fármacos - sobretudo os agentes anticolinérgicos - ou grau de hidratação) e se houver disfunção sudomotora a produção de suor estará aumentada ou diminuída o que resultará em perturbações da termorregulação (sistema homeostático fortemente controlado e complexo)^{43,85}.

As glândulas sudoríparas écrinas são inervadas sobretudo pelo sistema nervoso simpático colinérgico pós-ganglionar e a sua função é regulada de forma colinérgica e muscarínica pois é completamente inibida pela atropina^{43,86}.

A função sudomotora permite inferir sobre a função simpática colinérgica através de testes clínicos que envolvem sujeição a estímulos (*e.g.* temperatura ou fármacos) e medição da sudorese.

Estes testes além de diagnosticarem perturbações ou insuficiências da função simpática colinérgica, definem a gravidade, distribuição e localização da lesão (*i.e.* pré-ganglionar ou pós-ganglionar)^{35,43}.

Para avaliar a função sudomotora existem métodos qualitativos (*e.g.* teste cutâneo de suor com ninidrina ou teste minor amido-iodo) e métodos quantitativos (*e.g.* teste da termorregulação do suor, teste da impressão em silicone, teste do reflexo sudomotor direto e indireto ou teste do reflexo axonal sudomotor) que se combinados ganham relevância clínica na deteção e localização de lesões ganglionares, no diagnóstico precoce de deterioração da função sudomotora e na monitorização quer da progressão da doença, quer da sua recuperação⁸⁵.

A disfunção sudomotora é a perturbação neurofisiológica mais comum assim como uma das primeiras a surgir, em patologias que apresentem neuropatia distal de pequenas fibras, facto que motivou o aumento exponencial na pesquisa sobre a importância da avaliação da função autonómica em patologias como a diabetes *mellitus*^{13,81,87-93}.

Teste Quantitativo Do Reflexo Axonal Sudomotor (QSART)

O teste QSART dá uma medida direta da resposta sudomotora mediada pelo reflexo axonal que se provoca através da iontoforese (estimulação elétrica cutânea suave) que favorece a estimulação das glândulas sudoríparas por um agente colinérgico^{36,94,95}. Esse reflexo percorre a via neural mediada pelo o axónio sudomotor simpático pós-ganglionar, *i.e.* primeiro o fluxo nervoso é antidrómico (inverso do percurso normal) e só depois ortodrómico (do corpo para as terminações axonais na junção neuro-glandular)³⁶.

Este teste avalia quantitativamente e com resolução temporal a função sudomotora pós-ganglionar através da medição de variações na humidade cutânea relativa com um higrómetro inserido numa “cápsula de suor”, o que nos dá em *real-time* a latência, magnitude e duração da resposta sudorética. Metodologicamente a “cápsula de suor” é colocada em locais *standard* (antebraço, perna proximal, perna distal e pé) e cheia com agente colinérgico (*e.g.* ACh), procede-se à avaliação da linha basal da função autonómica do doente e depois à iontoforese para continuar com as restantes medições^{43,36,85}.

Trata-se de um teste com *hardware* e consumíveis disponíveis e acessíveis para a sua execução de forma rotineira, é um teste sensível e reproduzível, quer em controlos quer em doentes e as gravações são simétricas relativamente aos lados direito e esquerdo do corpo⁹⁴⁻⁹⁷.

A interpretação tem de ser feita por comparação com os valores normais³⁶. Uma resposta sudorética normal diz-nos que há integridade do axónio sudomotor simpático pós-ganglionar. Caso aconteça uma resposta anormal, seja por diminuição ou ausência, sabemos que há uma lesão nesse axónio (se assumirmos que a iontoforese foi executada com sucesso e que existem glândulas sudoríparas nesse território). Em lesões pré-ganglionares ou centrais, o resultado deste teste costuma ser normal embora possa tornar-se anormal se houver um defeito transsináptico ou atrofia das glândulas^{86,96}.

Este teste, à semelhança do teste do reflexo sudomotor direto e indireto, e da impressão em silicone avalia a função simpática colinérgica muito distalmente (pós-ganglionar) pelo que para confirmarmos o local da lesão temos de associar o teste da termorregulação do suor^{43,85}.

Teste Da Termorregulação Do Suor (TTS)

Este teste fornece uma medida topográfica semiquantitativa da função simpática pré e pós-ganglionar do corpo inteiro, ele avalia a função das vias sudomotoras simpáticas desde o hipotálamo até às glândulas sudoríparas écrinas (*i.e.* desde o sistema nervoso central até aspetos periféricos do SNS eferente) mas se aplicado por si só não diferencia causas de anidrose pré das pós-ganglionares³⁶.

O teste pode ser aplicado de várias formas sendo uma das quais a sujeição do indivíduo a uma fonte calor externa numa sala com temperatura e humidade controladas, de modo a elevar a temperatura corporal basal medida continuamente na cavidade oral. O doente está despido em supino numa cápsula e sobre a superfície corporal exposta (exceto olhos, nariz, boca e genitália) tem um indicador em pó (*e.g.* amido iodado ou quinizarina) que muda de cor de acordo com o pH^{43,36,85,98}.

Num indivíduo normal o tempo médio de aquecimento é de 45 minutos e a temperatura eleva-se em média 1,2 °C, a sudorese é relativamente uniforme mas com zonas que caracteristicamente têm maior resposta sudorética⁹⁸.

O resultado é uma medida topográfica pois mostra a distribuição do suor no corpo inteiro através da variação na cor de um indicador em pó em resposta ao aumento da temperatura corporal, e é documentado por fotografia digital. Os resultados são semiquantitativos porque podem ser

apresentados como percentagem corporal de anidrose, que ao mesmo tempo que nos dá uma ideia de gravidade da insuficiência autonómica, dá-nos um número que permite seguir quantitativamente a evolução a perturbação autonómica^{1,35,36,85}. Existem valores normais de distribuição e de percentagem corporal de anidrose publicados⁹⁸.

O teste está estandardizado e é utilizado para documentar insuficiência autonómica em doentes com hipohidrose ou anidrose^{81,85,99-102}. Apesar da sua utilidade clínica não é feito por rotina a não ser em centros especializados pois requer mais tempo que os restantes testes, equipamento especial, espaço clínico físico grande e uma preparação e tratamento particulares⁸⁵.

Potenciais Cutâneos

É um teste alternativo para a deteção de défices da função sudomotora simpática em neuropatias periféricas e perturbações autonómicas centrais. No entanto, a função sudomotora e os potenciais cutâneos avaliam funções similares mas não idênticas¹⁰³.

A vantagem major é o fato de ser simples, de se conseguir levar a cabo num laboratório normal de eletromiografia mas a lista de desvantagens é grande com muita variabilidade nas respostas, tendência para habituação das mesmas e uma falta de consenso na sua interpretação⁴³.

Apesar do anterior, aceita-se que uma componente dos potenciais cutâneos está relacionada com a função sudomotora e que uma perda da resposta cutânea simpática é anormal, contudo se essa redução e alteração na latência são anormalidades confiáveis já é controverso¹⁰⁴.

A correlação do teste com o QSART é também controversa^{105,106}.

Teste da Impressão em Silicone

Este teste avalia a função sudomotora simpática pós-ganglionar através da quantificação do débito de suor em pontos temporalmente predefinidos, após iontoforese ou injeção intradérmica de agonistas colinérgicos (*e.g.* pilocarpina ou nicotina) que estimulam diretamente e através do reflexo axonal as glândulas^{94,107}.

A impressão de suor é obtida por um molde de silicone ou plástico colocado logo após a iontoforese. Diferentes métodos, manuais e computadorizados, podem ser usados na quantificação,

mas qualquer um nos dará a número de gotas, o tamanho das gotas e distribuição das gotas de suor. O volume do suor pode ser estimado indiretamente através de um hemicorpo^{88,108}.

Existem valores normais para as diferentes informações obtidas pelo teste. Se os resultados forem anormais pressupõe-se uma das seguintes, lesão pós-ganglionar, ductos glandulares obstruídos, glândulas danificadas ou ausência de glândulas⁸⁵.

À data, é o único método que permite quantificar o suor produzido por cada glândula o que se pode tornar relevante em situações potencialmente neuropáticas (*e.g.* desnervação, supersensibilidade, reinervação e hipertrofia glandular) que levem a uma quantidade absoluta de suor produzido normal mas a um menor número de gotas¹⁰⁸.

É uma técnica fácil de pôr em prática e barata mas limitada por ser muito dada ao surgimento de artefatos (*e.g.* pelos, sujidade, textura cutânea, bolhas de ar ou até componentes de algumas luvas), por não ter em conta a componente temporal da função sudomotora (o molde é aplicado e após 5 minutos retirado) o que leva à incapacidade de medir a latência e duração da resposta e pelo materiais usados terem vindo a evoluir mas não no sentido de melhorar os resultados deste teste^{109,110}.

Teste do Reflexo Sudomotor Direto e Indireto (QDIRT)

Este teste permite avaliar a função sudomotora simpática colinérgica pós-ganglionar através da medição da resposta sudorética direta e da mediada (axonal reflexa), tanto com resolução temporal (a mais valia observada no QSART) como com resolução espacial (*e.g.* número e tamanho das gotas, à semelhança da impressão em silicone)^{1,85,111}.

O teste consiste na execução da iontoforese com ACh seguida de secagem da superfície cutânea e dispersão de indicador sobre a mesma. A zona é fotografada a cada 15 segundos durante 7 minutos e os resultados analisados como uma sequência processada por software num computador. As gotas de suor são analisadas quanto ao número, tamanho e percentagem de área centrada em volta do ponto sujeito à estimulação⁸⁵.

Os resultados das variações dos parâmetros analisados são expressos em área produtora de suor por resposta no geral, resposta direta e resposta indireta¹¹¹.

Esta técnica é relativamente recente e ainda carece de mais investigação no estudo de doenças com perturbações autonómicas associadas pois só foi testada na neuropatia de pequenas fibras. Acarreta as vantagens de ter baixos custos associados e possibilidade de execução por médicos sem ser em laboratórios autonómicos sofisticados^{111,112}.

Testes à Função Cardiovagal

Estes testes avaliam sobretudo o SNP através da análise da função vagal cardíaca de forma indireta, *i.e.* têm em consideração a VFC através da técnica de eletrocardiografia, após exposição a manobras gatilho para que através dos padrões de VFC se possa inferir sobre a função parassimpática^{1,3,35}.

Os elétrodos são colocados preferencialmente em locais que provoquem o menor número de artefatos durante as manobras, *e.g.* zona interescapular mais inferior ou como alternativa a zona infraclavicular lateralmente⁴³. O local de aplicação do eletrodo de referência é de importância secundária, sendo a linha axilar média esquerda à altura do mamilo uma das possíveis localizações⁴³.

O intervalo R-R é convertido em FC e analisado de forma contínua no *hardware* computadorizado, embora a relação clínica esteja validada só se aplicada por humanos, sendo a amplitude da VFC uma das medidas mais comuns.^{1,12,35}

Alguns autores sugerem como primeira linha de manobras gatilho a ventilação profunda, a manobra de Valsalva e o *tilt* ortostático, embora os dois últimos recolham em simultâneo dados relativos à PA, variável esta associada ao estudo da função simpática adrenérgica^{1,35,107}. Como exemplos de testes de segunda linha temos a opressão dos globos oculares, a massagem do seio carotídeo ou o teste da imersão facial e todos causam bradicardia¹.

Os métodos mais usados para avaliar a função cardiovagal no domínio do tempo são a VFC com a ventilação profunda e a VFC com a manobra de Valsalva, sendo as unidades de medida mais comuns o ratio de Valsalva e a amplitude da VFC. Relativamente ao domínio da frequência a mais comum é a análise espectral da VFC em repouso³⁶.

Embora se tenha comparado a sensibilidade dos testes da função cardiovagal sabe-se que quase todos têm muito boa sensibilidade pelo que esse parâmetro não se torna motivo de escolha. A VFC com a ventilação profunda parece ser a melhor escolha pois as vias aferentes e eferentes que o medeiam são vagais, os doentes conseguem cooperar com fidelidade e as variáveis que o afetam estão bem estudadas. Pelo contrário, outros como a manobra de Valsalva e o *Tilt* ortostático têm uma fisiologia complexa que envolve além da função vagal, a função simpática e mecanismos centrais^{35,43,92,113}.

VFC com a Ventilação Profunda (VFC_{VP})

A VFC_{VP} é mediada sobretudo pelo nervo vago¹⁰⁷, motivo pelo qual é o teste autonómico indireto mais usado como índice da função vagal^{35,36}.

A VFC_{VP} não varia com o género sexual do doente, nem com a hora do dia ou a quantidade do tempo em repouso que precede a manobra.⁴³

Os fatores que mais influenciam a VFC_{VP} são a idade e a frequência respiratória do doente no entanto a hipocápnia¹¹⁴, a ativação simpática¹¹⁵, a medicação (*e.g.* salicilatos), a obesidade, o volume inspiratório, a profundidade da respiração e posição do doente também interferem embora de forma ligeira⁴³.

O aumento da idade associa-se ao declínio linear da amplitude da VFC_{VP}⁹⁷, razão pela qual o intervalo normal depende da faixa etária, para que haja um maior valor discriminativo do teste (*i.e.* reduzir falsos negativos em jovens e falsos positivos em idosos).

Em indivíduos saudáveis, para um dado volume corrente, frequências ventilatórias entre 5 a 6 por minuto têm valores de amplitude da VFC máximos^{116,117}, *i.e.* abaixo e acima desse intervalo a amplitude é menor^{118,119}. Em indivíduos com neuropatia (*e.g.* diabéticos) devemos esperar amplitude máxima da VFC em frequências ventilatórias menores^{36,120,121}.

O número de ciclos durante os quais se analisa varia com o investigador^{122–128} embora o mais comum seja o de 6 ciclos, logo o método implica pedir ao doente em supino após ligeiro período de relaxe, que ventile a uma frequência de 6 ventilações por minuto, que siga uma barra de oscilação

por um período de 10 segundos, enquanto 8 ciclos são gravados (é comum gravar 1 minuto de linha basal pré manobra gatilho)^{43,107,129}. Aguarda-se 5 minutos e o procedimento é repetido.⁴³

Na prática, diferentes laboratórios adaptam o método, mas no laboratório autonómico da Mayo^{R43} as cinco medições consecutivas maiores e menores são lidas e o software faz a sua média da qual se deriva a amplitude da FC³⁶, sendo que a primeira leitura é rejeitada se a leitura for maior que o dobro da subsequente. Os valores dos controlos devem ser adaptados a cada laboratório^{43,107}.

VFC com a Manobra de Valsalva (VFC&VPA_{MV})

É um teste autonómico indireto, sensível, específico, reproduzível e amplamente utilizado que avalia a função cardiovagal através da análise da VFC, mas também a função simpática adrenérgica através da análise das alterações na PA e a de baroreflexo^{35,107}.

Esta manobra gatilho consiste em fazer uma expiração forçada contra resistência e provoca um súbito e transiente aumento das pressões intratoraco-abdominais que desencadeia uma resposta hemodinâmica com 4 fases.¹³⁰

Na fase 1, o aumento da pressão intratorácica provoca um aumento transiente da PA em resposta ao impulsionar do sangue pela aorta, para a circulação periférica (fatores mecânicos); não se acompanha de aumento na atividade simpática e o bloqueio α -adrenérgico não as afeta. Na fase 2, a PA começa por diminuir (com um aumento compensatório da FC, aumento na resistência vascular periférica, aumento na atividade simpática muscular e o débito cardíaco diminui devido ao retorno venoso insuficiente) e termina por se elevar. Na fase 3, a PA diminui (com um aumento compensatório da FC) concomitante com o cessar da expiração. Na fase 4, a PA aumenta acima da linha de base (fenómeno denominado de *overshoot*) devido sobretudo ao aumento do cronotropismo mas também pela vasoconstrição residual associada ao retorno venoso para valores normais. O *overshoot* será responsável pela consequente bradicardia mediada pelo baroreflexo^{35,43,36,131}.

A avaliação da resposta hemodinâmica à manobra de Valsalva pode ser feita através da avaliação da PA a cada batimento cardíaco (VPA_{MV}) de forma não invasiva. Esta avaliação inside dobre as fases 2 e 4, e permite determinar o papel desempenhado pelo sistema nervoso simpático na resposta fisiológica a esta manobra³⁶.

O laboratório autonómico da Mayo® propõe aplicar a manobra com o doente reclinado^{132,133} em repouso. Pede-se ao doente que expire para um dispositivo de modo a manter uma coluna de mercúrio a cerca de 40 mm Hg (pressão ótima sobretudo em termos de reprodutibilidade^{35,43,36,131}) durante 15 segundos, sendo que o dispositivo deverá ter uma fuga de ar para evitar que a glote feche. A manobra dever-se-á repetir até 4 vezes, de forma a obter dois resultados semelhantes em termos de PA_{MV} e VFC_{MV} ^{43,36}.

Os fatores maior que influenciam os resultados da manobra são a posição do doente, a pressão expiratória e a duração da aplicação do esforço, e de forma minor a idade do doente, a ativação simpática, a medicação e o volume inspiratório^{43,134}.

Diferentes medidas podem ser utilizadas, das quais o ratio de Valsalva (rV) dá um dos valores mais utilizados e fidedignos. O rV calcula-se com o quociente da FC máxima pela mínima nos 30 segundos após pico de FC durante a manobra^{36,129,135}. Assume-se que o rV deveria ser enquadrado em valores normativos para faixa etária só que apesar de haver consenso quanto à idade enquanto viés minor, não o há em como varia com a idade^{51,125,136–138}.

A correta avaliação da função cardiovagal requer a conjugação destes resultados com os obtidos na FC_{VP} , enquanto em termos de avaliação da função simpática adrenérgica ter-se-á que integrar estes resultados com os da PA_{Tilt} ^{107,139}.

Análise Espectral da VFC em Repouso (eVFC_{Repouso})

Também no domínio da frequência a função cardiovagal pode ser quantificada³⁵.

A eVFC_{Repouso} produz vários picos, sendo que os mais elevadas (> 0,15 Hz) são reflexos da VFC devida à arritmia sinusal respiratória e é considerada uma medida da função cardiovagal³⁶.

VFC com *TILT* em Ortostatismo

A manobra em laboratório autonómico requer 20 minutos de descanso em supino após o qual se procede às gravações⁴³. Provoca-se movimento passivo no doente da posição em supino para a ortostática, o que induz *stress* ortostático e por sua vez estimula de forma compensatória o SNA (simpático, parassimpático e baroreflexo)^{35,107}.

O teste avalia sobretudo a função simpática adrenérgica e os resultados devem ser integrados com os de PA_{MV}^{107} .

Fazer o levante num indivíduo saudável provoca a deslocação de 300 a 800 mL de sangue do compartimento intravascular para outras regiões (*e.g.* pernas, glúteos, pélvis e circulação esplâncnica), o que aciona uma resposta hemodinâmica significativa, sobretudo nos primeiros 30 segundos^{35,43}.

Uma avaliação detalhada das fases e mecanismos da resposta ao levante já existe^{140–143}. O levante resulta numa primeira fase (30 segundos iniciais), num aumento abrupto da FC com o seu pico aos 3 segundos mediado pela inibição súbita do tónus vagal, muito provavelmente como resposta reflexa à contração muscular (sinais musculares aferentes) e a centros cerebrais como ínsula e córtex cingulado que provocam uma resposta proporcional à atividade física ou percebida como necessária à atividade física¹⁴⁴. Em seguida a FC aumenta de forma gradual com pico aos 12 segundos mediado pela ativação do baroreflexo como resposta à hipotensão transitória^{141,145}. O baroreflexo é ainda tido como o mecanismo que causa a bradicardia aos 20 segundos. Na segunda fase da resposta (dos 30 segundos aos 20 minutos), os parâmetros hemodinâmicos mantêm-se relativamente estáveis^{35,43,140}.

Este *stress* ortostático leva à sequência cardíaca que é a base fisiológica do ratio 30:15 (quociente do intervalo R-R no batimento 30 pelo no batimento 15 após levante⁴³) uma medida usada na avaliação da função autonómica. A bradicardia final pode ser abolida por uma função cardiovagal insuficiente, ou pela administração de fármacos como a atropina (parasimpaticolítico)^{142,146}.

Quando o ratio é inferior ou igual a 1 assume-se perturbação da função vagal embora não nos indique gravidade¹⁴². Este teste é inferior ao VFC_{VP} pois envolve uma fisiologia mais complexa e porque as variáveis que o afetam não estão tão bem estudadas⁴³.

Testes à Função Simpática Adrenérgica

Para a função simpática adrenérgica, temos testes que a avaliam de forma indireta, *i.e.* analisam a variabilidade da PA *beat-to-beat* (VPA) através de esfigmomanómetros/monitores de PA (*e.g.* Finapres® ou Colin 7000®), após sujeição a manobras gatilho, de modo a inferir sobre a primeira^{1,35,43}.

Os dispositivos capazes de obter valores de PA continuamente e de forma não invasiva estão disponíveis no mercado sendo que por norma colhem concomitantemente os valores de FC, tanto na manobra de Valsalva como no *tilt* ortostático^{43,107}.

Alguns autores sugerem como primeira linha de testes a manobra de Valsalva, o *tilt* ortostático, o teste de força isométrica prolongada e o teste da imersão^{1,35,41}. Como testes de segunda linha pode-se ter a avaliação da PA em contexto pós-prandial ou o teste oculomotor¹.

VPA com a Manobra de Valsalva (VPA&VFC_{MV})

A fisiologia que suporta as fases da manobra de Valsalva é relativamente conhecida e já foi duplamente validada para avaliar a função simpática adrenérgica (vasoconstritora), primeiro por disseção farmacológica da manobra e depois por comparação com controlos de 3 grupos emparelhados por género sexual e idade^{130,131,139,147,148}. A componente vagal do baroreflexo também pode ser avaliada através da análise das alterações hemodinâmicas desta manobra³⁶.

Algumas atividades da vida diária são manobras tipo Valsalva, pelo que num indivíduo com insuficiência autonómica generalizada podem levar a uma progressiva descida da PA, que pode-se manter até 1 minuto após a manobra, e eventual conduzir à síncope por ausência do baroreflexo (que deveria ter mediado de forma simpática a vasoconstrição compensatória)^{43,130,149}.

A componente adrenérgica do baroreflexo pode ser avaliada pelo tempo de recuperação da PA, que corresponde ao tempo que a PA demora a retornar aos valores basais na fase 3 (em segundos). A componente vagal do baroreflexo, embora secundária neste segmento da avaliação autonómica, é avaliada através da relação entre VPA durante a fase 2 inicial com a VFC correspondente gerando uma sensibilidade de baroreflexo em msec/mm Hg³⁶.

As medidas mais comumente utilizadas para avaliar as respostas simpáticas nesta manobra são a magnitude e duração das alterações da PA. A análise quantitativa comparativa dessas medidas permite a deteção de todo o espectro de perturbação simpática assim como diferenciá-los de controlos saudáveis^{139,147,150}.

Em doente com perturbação do sistema adrenérgico periférico, como por exemplo no caso de neuropatia com envolvimento das fibras C, a fase 2 inicial encontra-se aumentada e noutros casos

podemos observar a fase 2 tardia completamente ausente. No caso de haver afeção severa do sistema autonómico periférico, com envolvimento mais abrangente inclusivamente das fibras adrenérgicas do tronco esplâncnico, observa-se uma fase 2 inicial aumentada e uma fase tardia ausente, com manutenção da fase 4 intacta. No caso da fase 4 se encontrar ausente podemos concluir que o sistema adrenérgico cardíaco está disfuncional⁴³.

Relativamente à análise de resultados deve-se ter em conta que como exceção podemos ter uma fase 4 diminuída ou abolida em indivíduos saudáveis caso a fase 2 seja ligeira ou ausente. Devemos prestar atenção também ao facto destas fases refletirem a função de órgão terminal. Uma fase 2 tardia ausente é indicativa de desnervação adrenérgica periférica ou de um fraco tónus vasomotor⁴³.

Os resultados da VPA_{MV} , quando integrados com os obtidos na VPA com *tilt* ortostático (VPA_{Tilt}) têm uma maior importância na deteção de perturbação simpática adrenérgica quando comparadas com medições de cabeceira de PA⁴³.

A principal vantagem da VPA_{MV} é a capacidade de aumentar a sensibilidade da VPA_{Tilt} , sobretudo para detetar formas ligeiras de perturbação simpática^{29,36,131,139}.

VPA com *Tilt* em Ortostatismo (VPA_{Tilt})

É um teste standardizado e um dos mais usados para a avaliação da função simpática adrenérgica, mas pela sua limitada sensibilidade pode não detetar formas mais ligeiras de perturbação simpática, pelo que de modo a colmatar esta desvantagem, os seus resultados devem ser integrados com os da VPA_{MV} ^{29,36,131}.

Estuda a função simpática através da análise da VPA após *tilt* ortostático (levante passivo) o que permite aumentar a sensibilidade do teste por reduzir a resposta compensatória provocada pela contração muscular ativa associada ao levante ativo¹⁴⁰.

Como foi dito acima, estas manobras provocam o deslocamento e acúmulo de sangue nas pernas, glúteos, pélvis e circulação esplâncnica, o que diminui o enchimento cardíaco direito e esquerdo e assim reduz o volume sistólico. Uma diminuição significativa da PA é prevenida através de um aumento compensatório na FC (devido à ausência de estimulação vagal que mais tarde se associa ao

aumento da ativação simpática) e à vasoconstrição (aumento da resistência e diminuição da capacitância) dos leitos vasculares esplâncnico, músculo-cutâneo e renal¹⁵¹.

O laboratório autonómico da Mayo® usa como metodologia *standard* a aplicação da manobra no final dos testes autonómicos, o que equivale a um descanso em supino de cerca de 45 minutos (é fundamental não variar a duração do descanso prévio à manobra pois influencia bastante a resposta hemodinâmica) seguido de *tilt* a 70° (postulado como melhor compromisso entre maximizar o stress ortostático e minimizar os efeitos da contração muscular ativa) com o braço num apoio para se manter sempre ao nível do coração durante toda a manobra, de modo a influenciar o mínimo possível a PA^{43,152}. Usa-se uma mesa de *tilt* automática com ênfase num *tilt* lento durante 10 a 20 segundos embora a taxa do *tilt* pareça não influenciar a resposta hemodinâmica^{43,153}. As gravações são obtidas ao primeiro e quinto minutos após o levante passivo. Os valores de PA sistólicos, médios e diastólicos são obtidos continuamente através do Finapres® assim como os valores de FC através dos elétrodos do eletrocardiograma, ambos monitorizados em tempo real no monitor do computador⁴³.

Num indivíduo saudável, durante o *tilt* a PA mantém-se relativamente constante (com uma diminuição transiente da PA sistólica inferior a 10 mm Hg e aumento ligeiro da PA diastólica) e a FC aumenta ligeiramente de forma compensatória (5 a 20 bpm)³⁶. Se a descida da PA for maior assume-se que o indivíduo está descondicionado ou que tem um fraco tónus vasomotor¹⁵⁴.

Indivíduos com insuficiência simpática adrenérgica têm uma redução marcada e progressiva da PA. Doentes hipovolémicos ou com síndrome da taquicardia ortostática postural têm uma queda abrupta na PA, da qual recuperam nos primeiros 30 segundos. Em termos de FC, a resposta está normalmente atenuada, mas se a inervação adrenérgica estiver poupada a FC pode estar normal ou mesmo aumentada⁴³.

O *stress* adrenérgico pode ser medido através de várias variáveis (*e.g.* excessivo número de oscilações da PA, diminuição excessiva de pressão de pulso, redução transiente da PA sistólica, aumento excessivo da FC e falência de mecanismos de resistência vascular periférica). Algumas dessas variáveis são anormalidades esperadas na falência de vasoconstrição arteriolar, premonitórias de síncope e como sinais de capacitância vascular aumentada. O aumento das oscilações da PA indica-nos que os mecanismos compensatórios estão funcionantes (o que se considera anormal

porque são sinais do sistema estar sob *stress*) embora a perda gradual da VPA e VFC nos mostre que esses mecanismos compensatórios estão a ser insuficientes⁴³.

Em doentes com síncope neurologicamente mediada, o *gold-standard* de teste clínico para diagnóstico é o *tilt* ortostático^{16,155–157}. Este teste também tem aplicação clínica no diagnóstico de hipotensão ortostática^{36,158}.

Teste de Força Isométrica Prolongada

A contração muscular isométrica mantida provoca respostas reflexas (*e.g.* aumenta a PA e a FC)¹⁵⁹. Estímulos de exercício muscular trazidos por aferentes musculares geram um aumento na função simpática eferente, no local a ser estimulado e aumento do cronotropismo muito embora uma diminuição do tónus simpático para outros locais^{160–162}.

O teste consiste em pedir-se ao doente para agarrar um dinamómetro e manter uma contração isométrica com um esforço de cerca de 30% durante 3 minutos⁴⁷.

Os resultados do teste apresentam uma grande variabilidade, a qual se deve sobretudo à dificuldade em standardizar o esforço muscular aplicado pelo doente mas também ao fato da atividade aferente diminuir durante o exercício de músculos treinados o que resulta numa diminuição do normal tónus simpático muscular e do associado aumento PA constatados durante o exercício¹⁶⁰, e ao facto da atividade dos quimiorreceptores musculares aferentes poder estar reduzida devido a uma diminuição na acumulação de metabolitos¹⁶³ ou à redução da sensibilidade de aferentes musculares aos metabolitos acumulados no músculo treinado¹⁶⁴.

Considera-se que este teste embora seja uma ferramenta de pesquisa interessante, faltam-lhe especificidade e sensibilidade para ser um teste com utilidade clínica³⁵, embora as alterações tanto na PA como na FC tenham sido utilizadas como testes para a função simpática^{40,160}.

Teste da Imersão

Este teste avalia a função simpática de forma indireta através da análise de reflexos, sobretudo cardiovasculares, após a exposição a uma manobra gatilho^{165–167}.

Neste teste instrui-se o doente a imergir a mão em água com gelo durante 1 a 3 minutos³⁵.

A resposta prevista consiste num aumento do tónus simpático, com elevação da PA e da FC, acompanhado da elevação do tónus simpático muscular⁴⁷.

O aumento da TA correlaciona-se linearmente com o aumento no simpático muscular e NE plasmática venosa¹⁶⁸.

O teste tem especificidade e sensibilidade baixas para detetar disfunção simpática³⁵.

Avaliação da Noradrenalina Plasmática (NE_P)

Os métodos acima mencionados não são fáceis nem rápidos de ser aplicados, o que levou à investigação de parâmetros laboratoriais que potencialmente pudessem traduzir a função autonómica pois apesar de mais invasivos são muito mais fáceis e rápidos de executar¹.

A literatura mostra-nos um leque de dificuldades relativas à avaliação das análises clínicas associadas a alterações do SNA, pelo que não foram aprofundadas neste trabalho, com exceção da quantificação de NE_P.

Nos anos 80 começou a surgir evidência de que a NE_P podia ser usada como marcador da atividade do SNS, sendo hoje um método comum e utilizado como medida da atividade simpática global.

Este método tem várias limitações das quais se realçam a baixa sensibilidade (pois primeiro a NE_P representa apenas uma pequena porção da NE secretada pelas terminações pós-sinápticas, segundo os níveis de NE_P dependem da excreção, do metabolismo e da captação pela circulação sanguínea e terceiro que se tivermos em conta apenas os níveis de NE_P não conseguiremos discriminar se o mecanismo do aumento é central *i.e.* por aumento da produção, ou se é periférico *i.e.* por diminuição da excreção)¹⁶⁹, a limitada reprodutibilidade (ligeiramente contornada com a repetição da colheita de amostras com vista ao cálculo de um valor médio) e a limitação conceptual de abordar o SNS como um sistema humoral e desse modo passível de ser avaliado com um único biomarcador.⁶

A função simpática varia dentro de diferentes regiões de um mesmo indivíduo e o SNS tem diversos níveis e componentes. Alguns autores afirmam que avaliar a função autonómica através dos níveis de um único biomarcador não será nem específico nem sensível, e que também não refletirá

uma função simpática “global”, de modo que os níveis de catecolaminas, incluindo a NE, não se correlacionam bem com perturbação simpática^{170–172}.

De modo a tentar mitigar as limitações acima descritas surgiu uma melhor medida laboratorial para avaliar a função simpática, permitindo-nos calcular a *clearance* de NE assim como a sua taxa de libertação sináptica. O método da diluição de um isótopo da NE para determinação do *spillover* da NE regional e total (mede a taxa a que a NE entra no plasma) que associada a testes que avaliam o *reuptake* de NE (mede a taxa de *reuptake* da NE) permite saber se o *spillover* de NE é por aumento da libertação ou por diminuição do *reuptake*^{1,6,173,174}.

Uma mais-valia desta técnica é poder ser utilizada como complemento à microneurografia pois esta última não consegue avaliar o tónus simpático ao nível de órgãos internos¹⁷⁴.

O método da diluição de um isótopo da NE para determinação do *spillover* da NE regional e total, assim como o método da microneurografia para avaliar a atividade nervosa simpática eferente pós-ganglionar muscular e cutânea, são métodos que embora limitados são altamente complementares. Através deles vieram grandes avanços no conhecimento do SNS em humanos, sobretudo através da análise das alterações da função simpática na hipertensão^{22,175}.

Apesar destas intrincadas análises e cálculos, atualmente propõe-se este método numa versão simplificada. Consiste na medição da NE_P na posição supina e em pé (após um tempo predefinido). Existem valores normais para a sua aplicação e espera-se que num indivíduo saudável a concentração de NE_P seja em pé o dobro da que se obtém em supino³⁶.

A aplicação clínica passa pelo diagnóstico de insuficiência pós-ganglionar adrenérgica generalizada (*e.g.* insuficiência autonómica pura) se em supino o doente tiver valores anormalmente baixos. Também tem aplicação em lesões pré-ganglionares (*e.g.* atrofia multisistémica) se os valores forem normais em supino mas inferiores ao esperado em pé^{36,176}.

Captação Cardíaca de Iodo-123 Meta-Iodobenzilguanidina ([¹²³]MIBG)

A quantificação da captação cardíaca do análogo da NE radio-marcado, o [¹²³]MIBG, dá-nos um índice da integridade funcional dos terminais cardíacos pré-sinápticos pós-ganglionares simpáticos adrenérgicos.

Quantifica-se através de tomografia computadorizada com emissão de fóton único, ou com recurso a uma abordagem mais recente, usar o 6- ^{18}F urodopamina quantificado por tomografia computadorizada de emissão de positrões e análise neuroquímica, que tem uma melhor resolução³⁶.

A aplicabilidade clínica passa pelo fato da captação estar reduzida em lesões pós-ganglionares (*e.g.* insuficiência autonómica pura ou doença de Parkinson) e comumente normal na atrofia multisistémica¹⁷⁷.

Embora não seja recomendado, existe evidência de aplicabilidade no diagnóstico de feocromocitoma, de modo que caso o teste seja positivo torna o doente um candidato a terapêutica com ^{131}I MIBG^{178,179}.

Outros Testes Autonómicos

Teste da Sensibilidade Do Baroreflexo

O baroreflexo usa como medida a alteração no intervalo de FC entre batimentos (em milissegundos) por unidade de PA (em mm de Hg), *e.g.* se a PA aumentar 8 mm de Hg e o intervalo entre batimentos cardíacos aumentar 100 ms, o baroreflexo será $100/8$)^{1,6,180,181}.

O teste da sensibilidade do baroreflexo, é um método complementar de avaliação indireta do SNA com recurso a reflexos cardiovasculares, que tem por base a relação dinâmica entre a FC e a PA³⁵.

O método clássico de avaliação do baroreflexo foi desenvolvido pelo grupo Oxford e mais tarde refinado, e inclui a administração de fármacos vasoativos. Induz-se uma queda na PA com a administração de nitroprussiato de sódio seguida de um bólus de cloridrato de fenilefrina no sentido de voltar a aumentar a PA. Observa-se a variação da PA em relação ao intervalo dos batimentos cardíacos. Este método permite testar o baroreflexo numa gama alargada de valores de PA fisiológicos, determinar o *threshold* e ponto de saturação do baroreflexo e, quando associado à microneurografia permite determinar o baroreflexo simpático mas sendo a microneurografia uma técnica invasiva torna-se impraticável em algumas situações clínicas¹⁸²⁻¹⁸⁵.

Mais recentemente, métodos não invasivos têm sido utilizados, estes têm por base a observação das alterações da PA e do batimento cardíaco que ocorrem em resposta a manobras que testam o

SNA ou mesmo que ocorrem espontaneamente, aplicada por exemplo através de camaras/colares cervicais. Como exemplos temos a técnica de sequência, que relaciona a sequência de flutuações na PA associada a flutuações do batimento cardíaco e a manobra de Valsalva⁴⁴.

A vantagem major desta última técnica é que por métodos não invasivos permite avaliar reflexos cardíacos e vasculares, pois alterações numa das componentes não implica alterações na outra⁴⁴. Uma desvantagem reside no fato da associação entre a sensibilidade do baroreflexo obtida com a fenilefrina e a obtida por técnicas não invasivas nem sempre ser forte^{186,187}.

Microneurografia Simpática

O aparecimento desta técnica invasiva deu origem a métodos de avaliação direta das fibras nervosas periféricas simpáticas, para músculo e pele, que podem ser utilizados num indivíduo acordado, tanto em repouso como após sujeição a perturbações fisiológicas^{1,35,188-194}.

A microneurografia parece ser útil ao conseguir demonstrar disautonomia associada a alterações na termorregulação e ao controlo de PA^{188-190,195}. Modelos matemáticos recentes aceleraram e simplificaram a análise dos registos de microneurografia¹⁹¹.

Os métodos que usam a microneurografia são a atividade nervosa simpática muscular (ANSM) na qual a ponta do microeléctrodo de tungsténio penetra o fascículo nervoso muscular (fibras C) e regista a neurotransmissão simpática eferente, e a atividade nervosa simpática cutânea (ANSC) na qual a ponta do microeléctrodo de tungsténio penetra o fascículo nervoso cutâneo (fibras C) e regista a neurotransmissão simpática eferente.^{1,35}

A técnica começa pelo mapeamento de nervos mistos superficiais para consequente estudo. O nervo mais comumente utilizado é o peronial, mas o mediano, o radial e o tibial também podem ser usados. Administra-se um estímulo externo eléctrico de baixa intensidade após ter colocado dois eléctrodos (um de base e outro de baixa impedância como referência na vizinhança da área estimulada). O microeléctrodo é então colocado manualmente num fascículo do nervo peronial através da pele não anestesiada, enquanto vai administrando estímulos eléctricos de baixa voltagem, o que nos permite localizar com facilidade o fascículo nervoso que inerve músculos através da indução de movimentos involuntários. O microeléctrodo passa a ser utilizado para leitura de fluxo nervoso simpático eferente para os músculos (*e.g.* gémeos)¹⁹⁶.

Na ANSM, o tônus simpático muscular está coordenado com a FC e é predominantemente constituído por impulsos vasoconstritores eferentes conduzidos em fascículos nervosos musculares. A frequência das descargas é regulada pelos baroreceptores e está aumentada quando a PA diminui sendo o inverso verdade também. Sabe-se que o simpático muscular aumenta o seu tônus durante as fases REM do sono e diminui nas não REM¹⁹⁷.

Na ANSC, o tônus simpático cutâneo consiste também em impulsos vasoconstritores conduzidos em fascículos nervosos, mas para capilares cutâneos, *bypass* arterio-venosos e sistemas sudomotor e pilomotor. Esses impulsos surgem em picos irregulares de duração variável e com alguma frequência correlacionam-se com o ritmo respiratório. A atividade simpática cutânea reflexa acontece por resposta à excitação¹⁹⁴.

7. Discussão e Conclusão

Os testes autonómicos clínicos quando aplicados adequadamente permitem-nos avaliar com precisão os vários componentes autonómicos, contudo, é importante realçar que não existe nenhum TA que por si só seja eficaz nesta avaliação, pelo que é recomendado que sejam usadas baterias de testes. Apesar do anterior, não estão ainda estandardizadas que baterias usar em função da disautonomia que se pretende estudar.^{1,6,12,35,43,198}

As baterias de TA permitem detetar padrões de variação do SNA pelo que contribuem para o diagnóstico, a classificação e determinação da gravidade das disautonomias. Permitem ainda identificar a distribuição das neuropatias autonómicas pelo que alguns já entram em normas de orientação clínica norte americanas.^{1,6,12,13,15,41,42,53,56,169,199–205}

A função autonómica, avaliada no período peri-cirúrgico, tem valor prognóstico nomeadamente em EAM sem supradesnívelamento do segmento ST sujeitos a angioplastia, em *bypasses* coronários eletivos e em cirurgia não cardíaca em doentes com alto risco de doença coronária. Os resultados obtidos podem ser analisados e correlacionados respetivamente com os índices de morte ou EAM de novo, de mortalidade a um ano e de potencial para detetar subgrupos de doentes com maior risco de complicações pós-operatórias. Alguns autores concluem ainda sobre a sua potencial utilização como ferramenta prognóstica pré-operatória em cirurgias major eletivas^{206–209}.

A literatura é ainda muito reduzida em termos de estudos que associem cirurgia abdominal ou mesmo a colo-retal a repercussões autonómicas características²⁷. A cirurgia abdominal major, mesmo quando sem complicações, gera no pós-operatório um síndrome de resposta inflamatória sistémica com repercussão laboratorial e clínica²¹⁰ o que leva a uma desregulação transitória do SNA (assume-se o tónus simpático aumentado e o tónus parassimpático diminuído)^{13,27,39}.

À semelhança de outras patologias a DA colo-retal também se reflete no SNA desde fases subclínicas^{13,211}.

Alguns fatores de risco inerentes à cirurgia colo-retal estão identificados, mas a fisiopatologia da DA colo-retal permanece desconhecida, provavelmente devido à falta de conhecimento do processo de cicatrização anastomótica apesar de vários estudos em modelos animais e humanos^{212,213}.

A apresentação da DA varia desde por exemplo um *onset* súbito de sépsis com falência multiorgânica, a uma apresentação mais insidiosa (*e.g.* ileus) ou até ser subclínica e apenas detetável através de métodos imagiológicos. O diagnóstico e atuação precoces são fundamentais para diminuir a morbilidade e a mortalidade^{214,215}.

O SNA inerva quase todos os órgãos e em particular o sistema gastrointestinal, alguns autores até teorizam eixos neuro-intestinais^{12,216,217}, e a função basal dos intestinos é regulada pela função autonómica pelo que disrupções no seu funcionamento também se refletirão na função autonómica. A função autonómica está em constante e rápida adaptação para manter a homeostasia e varia virtualmente com quase tudo (*e.g.* anestesia, inflamação, doença ou cirurgia), dentro de padrões de variação que em alguns casos diferenciam controlos de doentes^{1,11,218}. Os padrões vão desde os mais simples (*e.g.* predominância simpática detetada na síndrome do intestino irritável) até aos mais complexos com análises matemáticas^{12,19,56}. Estes padrões são detetados através da análise de resultados obtidos pelos TA, dentro dos quais, os com maior aplicabilidade clínica na atualidade foram abordados em maior profundidade nos resultados da tese^{12,18,36}.

Assim percebe-se que embora a fisiopatologia da deiscência seja ainda desconhecida, a deiscência da anastomose está intrinsecamente relacionada com o SNA. Tendo como base teórica a reciprocidade da influência da primeira sobre a segunda, será que se pode usar a análise da função autonómica como parâmetro de deteção precoce de DA colo-retal?

Infelizmente, o fato de não existirem TA diretos de avaliação do cólon, e do SNA variar por resposta a quase qualquer *stress*, os padrões de variabilidade autonómica podem não conseguir distinguir entre a DA colo-retal em fase subclínica e o doente em pós-cirúrgico sem DA.

Apesar disto, após a revisão analítica pode-se inferir de modo a teorizar que a avaliação do SNA através da aplicação de TA poderá ter valor diagnóstico e/ou prognóstico de DA colo-retal, e consequentemente ter peso na gestão médica do doente (*e.g.* efetuar exames imagiológicos precocemente, ou mesmo na decisão de adiantar ou protelar a alta hospitalar do doente).

Desta forma, propõe-se mais investigação nesta área.

8. Bibliografia

1. Dobrek L, Thor P. Current concepts in clinical and laboratory assessments of autonomic nervous system activity. *J Pre-Clinical Clin Res*. 2015;9(1):63-68. <http://www.jpccr.eu>.
2. Sladek CD, Michelini LC, Stachenfeld NS, Stern JE, Urban JH. Endocrine-autonomic linkages. *Compr Physiol*. 2015;5(3):1281-1323. doi:10.1002/cphy.c140028.
3. Mazzeo AT, La Monaca E, Di Leo R, Vita G, Santamaria LB. Heart rate variability: A diagnostic and prognostic tool in anesthesia and intensive care. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2011;55(7):797-811. doi:10.1111/j.1399-6576.2011.02466.x.
4. Pothineni NV, Shirazi LF, Mehta JL. Gender Differences in Autonomic Control of the Cardiovascular System. *Curr Pharm Des*. 2016;22(25):3829-3834.
5. Abhishekh HA, Nisarga P, Kisan R, et al. Influence of age and gender on autonomic regulation of heart. *J Clin Monit Comput*. 2013;27(3):259-264. doi:10.1007/s10877-012-9424-3.
6. Zygmunt A, Stanczyk J. Methods of evaluation of autonomic nervous system function. *Arch Med Sci*. 2010;6(1):11-18. doi:10.5114/aoms.2010.13500.
7. Mathias CJ. AUTONOMIC DISEASES: CLINICAL FEATURES AND LABORATORY EVALUATION. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74:31-41.
8. Cleophas TJ, van Marum R. Age-related decline in autonomic control of blood pressure: implications for the pharmacological management of hypertension in the elderly. *Drugs Aging*. 2003;20(5):313-319.
9. Broeckel U, Stoll M, Hein L. The identification of phosducin as a novel candidate gene for hypertension and its role in sympathetic activation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011;20(2):118-124. doi:10.1097/MNH.0b013e3283432e05.
10. Staud R. Autonomic dysfunction in fibromyalgia syndrome: postural orthostatic tachycardia. *Curr Rheumatol Rep*. 2008;10(6):463-466.
11. Van Cauwenbergh D, Nijs J, Kos D, Van Weijnen L, Struyf F, Meeus M. Malfunctioning of the autonomic nervous system in patients with chronic fatigue syndrome: a systematic literature review. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(5):516-526. doi:10.1111/eci.12256.
12. Gibbons CH, Jr WPC. Model Coverage Policy Autonomic Testing. 2014;(October):1-10.
13. Vinik AI, Erbas T. Diabetic autonomic neuropathy. *Handb Clin Neurol*. 2013;117:279-294. doi:10.1016/B978-0-444-53491-0.00022-5.
14. Tang DM, Friedenberg FK. Gastroparesis: approach, diagnostic evaluation, and management.

- Dis Mon.* 2011;57(2):74-101. doi:10.1016/j.disamonth.2010.12.007.
15. Dineen J, Freeman R. Autonomic Neuropathy. *Semin Neurol.* 2015;35(4):458-468. doi:10.1055/s-0035-1558983.
 16. Sutton R. The Value of Tilt Testing and Autonomic Nervous System Assessment. *Cardiol Clin.* 2015;33(3):357-360. doi:10.1016/j.ccl.2015.04.003.
 17. Ziemssen T, Reichmann H. Cardiovascular autonomic testing in extrapyramidal disorders. *J Neurol Sci.* 2011;310(1-2):129-132. doi:10.1016/j.jns.2011.07.032.
 18. Weimer LH. Autonomic testing: common techniques and clinical applications. *Neurologist.* 2010;16(4):215-222. doi:10.1097/NRL.0b013e3181cf86ab.
 19. Martinez-Martinez L-A, Mora T, Vargas A, Fuentes-Iniestra M, Martinez-Lavin M. Sympathetic nervous system dysfunction in fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, irritable bowel syndrome, and interstitial cystitis: a review of case-control studies. *J Clin Rheumatol.* 2014;20(3):146-150. doi:10.1097/RHU.0000000000000089.
 20. Deguchi K. [Impaired exercise-induced blood pressure control in patients with Parkinson's disease and related disorders]. *Rinsho Shinkeigaku.* 2013;53(11):1379-1381.
 21. Spritzer SD, Zarkou S, Ireland SP, Carter JL, Goodman BP. Autonomic dysfunction in adult-onset alexander disease: a case report and review of the literature. *Clin Auton Res.* 2013;23(6):333-338. doi:10.1007/s10286-013-0205-y.
 22. Parati G, Esler M. The human sympathetic nervous system: its relevance in hypertension and heart failure. *Eur Heart J.* 2012;33(9):1058-1066. doi:10.1093/eurheartj/ehs041.
 23. Hirst NA, Tiernan JP, Millner PA, Jayne DG. Systematic review of methods to predict and detect anastomotic leakage in colorectal surgery. *Color Dis.* 2014;16(2):95-109. doi:10.1111/codi.12411.
 24. Adlan AM, Lip GYH, Paton JFR, Kitas GD, Fisher JP. Autonomic function and rheumatoid arthritis-A systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2014;44(3):283-304. doi:10.1016/j.semarthrit.2014.06.003.
 25. Peschel SK V, Feeling NR, Vögele C, Kaess M, Thayer JF, Koenig J. A systematic review on heart rate variability in Bulimia Nervosa. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016;63:78-97. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.01.012.
 26. Gergont A. [The function of autonomic nervous system during paroxysmal events in children and adolescents, and available diagnostic methods]. *Przegl Lek.* 2016;73(3):174-178.
 27. Haase O, Langelotz C, Scharfenberg M, Schwenk W, Tsilimparis N. Reduction of heart rate variability after colorectal resections. *Langenbeck's Arch Surg.* 2012;397(5):793-799.

doi:10.1007/s00423-012-0903-2.

28. Rubin DI, Cheshire WP. Evaluation of “dizziness” in the neurology office. *Semin Neurol.* 2011;31(1):29-41. doi:10.1055/s-0031-1271306.
29. Low PA. Composite Autonomic Scoring Scale for Laboratory quantification of generalized autonomic failure. *Mayo Clin Proc.* 1993;68(8):748-752. doi:10.1016/S0025-6196(12)60631-4.
30. Suarez GA, Opfer-Gehrking TL, Offord KP, et al. The Autonomic Symptom Profile: A new instrument to assess autonomic symptoms The Autonomic Symptom Profile A new instrument to assess autonomic symptoms. *Neurology.* 1999;52523:523-528. <http://www.neurology.org/cgi/content/full/52/3/523%5Cnwww.neurology.org>.
31. Low PA. *Clinical Autonomic Disorders*. IMO Publishing; 2008.
32. Said G. Examination and clinical care of the patient with neuropathy. *Handb Clin Neurol.* 2013;115:235-244. doi:10.1016/B978-0-444-52902-2.00013-8.
33. Alport AR, Sander HW. Clinical approach to peripheral neuropathy: anatomic localization and diagnostic testing. *Continuum (Minneap Minn).* 2012;18(1):13-38. doi:10.1212/01.CON.0000411546.13207.b1.
34. Low PA, Vernino S, Suarez G. Autonomic dysfunction in peripheral nerve disease. *Muscle Nerve.* 2003;27(6):646-661. doi:10.1002/mus.10333.
35. Freeman R, Chapleau MW. *Chapter 7 - Testing the Autonomic Nervous System*. Vol Volume 115. 1st ed. Elsevier B.V.; 2013. doi:10.1016/B978-0-444-52902-2.00007-2.
36. Low PA, Tomalia VA, Park K-J. Autonomic function tests: some clinical applications. *J Clin Neurol.* 2013;9(1):1-8. doi:10.3988/jcn.2013.9.1.1.
37. Daams F, Luyer M, Lange JF. Colorectal anastomotic leakage: Aspects of prevention, detection and treatment. *World J Gastroenterol.* 2013;19(15):2293-2297. doi:10.3748/wjg.v19.i15.2293.
38. Bakker IS, Grossmann I, Henneman D, Havenga K, Wiggers T. Risk factors for anastomotic leakage and leak-related mortality after colonic cancer surgery in a nationwide audit. *Br J Surg.* 2014;101(4):424-432. doi:10.1002/bjs.9395.
39. Loehrl TA. Autonomic dysfunction, allergy and the upper airway. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;15(4):264-267. doi:10.1097/MOO.0b013e32826fbcc9.
40. Ewing DJ, Irving JB, Kerr F, Wildsmith JAW, Clarke BF. Cardiovascular Responses to Sustained Handgrip in Normal Subjects and in Patients with Diabetes Mellitus: A Test of Autonomic Function. *Clin Sci.* 1974;46(3):295 LP-306.

<http://www.clinsci.org/content/46/3/295.abstract>.

41. Ewing DJ. Which battery of cardiovascular autonomic function tests? *Diabetologia*. 1990;33(3):180-181.
42. England JD, Gronseth GS, Franklin G, et al. Practice Parameter: evaluation of distal symmetric polyneuropathy: role of autonomic testing, nerve biopsy, and skin biopsy (an evidence-based review). Report of the American Academy of Neurology, American Association of Neuromuscular and Electrodiagnosti. *Neurology*. 2009;72(2):177-184. doi:10.1212/01.wnl.0000336345.70511.0f.
43. Low P. Testing the Autonomic Nervous System. *Semin Neurol*. 2003;23(4):407-422. doi:10.1055/s-2004-817725.
44. Cooper VL, Hainsworth R. Carotid baroreflex testing using the neck collar device. *Clin Auton Res*. 2009;19(2):102-112. doi:10.1007/s10286-009-0518-z.
45. Wilhelm H. Disorders of the pupil. *Handb Clin Neurol*. 2011;102:427-466. doi:10.1016/B978-0-444-52903-9.00022-4.
46. Obayashi K. [Construction and clinical evaluation of novel methods for detecting autonomic dysfunction]. *Rinsho Byori*. 2012;60(5):435-442.
47. Freeman R. Assessment of cardiovascular autonomic function. *Clin Neurophysiol*. 2006;117(4):716-730. doi:10.1016/j.clinph.2005.09.027.
48. Wilder-Smith EP V. Stimulated skin wrinkling as an indicator of limb sympathetic function. *Clin Neurophysiol*. 2015;126(1):10-16. doi:10.1016/j.clinph.2014.08.007.
49. Granger DA, Kivlighan KT, el-Sheikh M, Gordis EB, Stroud LR. Salivary alpha-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1098:122-144. doi:10.1196/annals.1384.008.
50. Hilz MJ, Dutsch M. Quantitative studies of autonomic function. *Muscle Nerve*. 2006;33(1):6-20. doi:10.1002/mus.20365.
51. Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care*. 1985;8(5):491-498.
52. Ewing DJ. Cardiovascular reflexes and autonomic neuropathy. *Clin Sci Mol Med*. 1978;55(4):321-327. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/361334>.
53. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The Natural History of Diabetic Autonomic Neuropathy. 1980;(193):95-108.
54. Spallone V, Bellavere F, Scionti L, et al. Recommendations for the use of cardiovascular tests in diagnosing diabetic autonomic neuropathy. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011;21(1):69-78.

55. Spallone V, Ziegler D, Freeman R, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27(7):639-653.
56. Barraza-Sandoval G, Casanova-Molla J, Valls-Sole J. Neurophysiological assessment of painful neuropathies. *Expert Rev Neurother*. 2012;12(11):1297-309; quiz 1310. doi:10.1586/ern.12.93.
57. Jaradeh SS, Prieto TE. Evaluation of the autonomic nervous system. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2003;14(2):287-305.
58. Boulton AJM, Vinik AI, Arezzo JC, et al. Diabetic neuropathies. *Diabetes Care*. 2005;28(4):956-962.
59. Spallone V, Morganti R, D'amato C, et al. Clinical correlates of painful diabetic neuropathy and relationship of neuropathic pain with sensorimotor and autonomic nerve function. *Eur J pain*. 2011;15(2):153-160.
60. Suarez GA, Clark VM, Norell JE, et al. Sudden cardiac death in diabetes mellitus: risk factors in the Rochester diabetic neuropathy study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(2):240-245.
61. Astrup AS, Tarnow L, Rossing P, Hansen B V, Hilsted J, Parving H-H. Cardiac autonomic neuropathy predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2006;29(2):334-339.
62. Ziegler D, Zentai CP, Perz S, et al. Prediction of mortality using measures of cardiac autonomic dysfunction in the diabetic and nondiabetic population. *Diabetes Care*. 2008;31(3):556-561.
63. Vernino S, Low PA, Fealey RD, Stewart JD, Farrugia G, Lennon VA. Autoantibodies to ganglionic acetylcholine receptors in autoimmune autonomic neuropathies. *N Engl J Med*. 2000;343(12):847-855.
64. Baker SK. 79. Autoimmune autonomic ganglionopathy with late-onset encephalopathy. *Clin Neurophysiol*. 2009;120(2):e111-e112.
65. Iodice V, Kimpinski K, Vernino S, Sandroni P, Low PA. Immunotherapy for autoimmune autonomic ganglionopathy. *Auton Neurosci*. 2009;146(1):22-25.
66. Gibbons CH, Centi J, Vernino S, Freeman R. Autoimmune autonomic ganglionopathy with reversible cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2012;69(4):461-466.
67. Vernino S, Adamski J, Kryzer TJ, Fealey RD, Lennon VA. Neuronal nicotinic ACh receptor antibody in subacute autonomic neuropathy and cancer-related syndromes. *Neurology*.

- 1998;50(6):1806-1813.
68. Low PA, Opfer-Gehrking TL, Textor SC, et al. Postural tachycardia syndrome (POTS). *Neurology*. 1995;45(4 Suppl 5):S19-25.
 69. Gordon VM, Opfer-Gehrking TL, Novak V, Low PA. Hemodynamic and symptomatic effects of acute interventions on tilt in patients with postural tachycardia syndrome. *Clin Auton Res*. 2000;10(1):29-33.
 70. Sandroni P, Novak V, Opfer-Gehrking TL, Huck CA, Low PA. Mechanisms of blood pressure alterations in response to the Valsalva maneuver in postural tachycardia syndrome. *Clin Auton Res*. 2000;10(1):1-5.
 71. Low PA, Schondorf R, Rummans TA. Why do patients have orthostatic symptoms in POTS? *Clin Auton Res*. 2001;11(4):223-224.
 72. Singer W, Spies JM, McArthur J, et al. Prospective evaluation of somatic and autonomic small fibers in selected autonomic neuropathies. *Neurology*. 2004;62(4):612-618.
 73. Thieben MJ, Sandroni P, Sletten DM, et al. Postural orthostatic tachycardia syndrome: the Mayo clinic experience. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Vol 82. Elsevier; 2007:308-313.
 74. Gibbons CH, Freeman R. Intense cardiovascular exercise as a treatment for non-neuropathic postural tachycardia syndrome (POTS). In: *Neurology*. Vol 76. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS 530 WALNUT ST, PHILADELPHIA, PA 19106-3621 USA; 2011:A264-A264.
 75. Nolano M, Provitera V, Perretti A, et al. Ross syndrome: a rare or a misknown disorder of thermoregulation? A skin innervation study on 12 subjects. *Brain*. 2006;129(8):2119-2131.
 76. Kimpinski K, Iodice V, Sandroni P, Fealey RD, Vernino S, Low PA. Sudomotor dysfunction in autoimmune autonomic ganglionopathy. *Neurology*. 2009;73(18):1501-1506.
 77. Fisher DA, Maibach HI. Postural Hypotension and Anhidrosis: The Autonomic Insufficiency Syndrome. *Arch Dermatol*. 1970;102(5):527-531.
 78. Spector RH, Bachman DL. Bilateral Adie's tonic pupil with anhidrosis and hyperthermia. *Arch Neurol*. 1984;41(3):342-343.
 79. Kang WH, Chun S Il, Lee S. Generalized anhidrosis associated with Fabry's disease. *J Am Acad Dermatol*. 1987;17(5):883-887.
 80. Mitchell J, Greenspan J, Daniels T, Witcher JP, Maibach HI. Anhidrosis (hypohidrosis) in Sjögren's syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1987;16(1):233-235.
 81. FEALEY RD, LOW PA, THOMAS JE. Thermoregulatory sweating abnormalities in diabetes mellitus. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Vol 64. Elsevier; 1989:617-628.
 82. Weller M, Wilhelm H, Sommer N, Dichgans J, Wiethölter H. Tonic pupil, areflexia, and

- segmental anhidrosis: two additional cases of Ross syndrome and review of the literature. *J Neurol*. 1992;239(4):231-234.
83. Gibbons CH, Freeman R. Antibody titers predict clinical features of autoimmune autonomic ganglionopathy. *Auton Neurosci*. 2009;146(1):8-12.
 84. Freeman R. Autonomic peripheral neuropathy. *Neurol Clin*. 2007;25(1):277-301.
 85. Illigens BMW, Gibbons CH. Sweat testing to evaluate autonomic function. *Clin Auton Res*. 2009;19(2):79. doi:10.1016/j.immuni.2010.12.017.Two-stage.
 86. Low PA, Opfer-Gehrking TL, Kihara M. In vivo studies on receptor pharmacology of the human eccrine sweat gland. *Clin Auton Res*. 1992;2(1):29-34.
 87. Low VA, Sandroni P, Fealey RD, Low PA. Detection of small-fiber neuropathy by sudomotor testing. *Muscle and Nerve*. 2006;34(1):57-61. doi:10.1016/j.devcel.2005.12.005.
 88. Kennedy WR, Sakuta M, Sutherland D, Goetz FC. The sweating deficiency in diabetes mellitus: methods of quantitation and clinical correlation. *Neurology*. 1984;34(6):758-763. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6539438.
 89. Hoeijmakers JGJ, Bakkers M, Blom EW, Drenth JPH, Merkies ISJ, Faber CG. [Small fibre neuropathy: knowledge is power]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2012;156(7):A4224.
 90. Argiana V, Eleftheriadou I, Tentolouris N. Screening for the high-risk foot of ulceration: tests of somatic and autonomic nerve function. *Curr Diab Rep*. 2011;11(4):294-301. doi:10.1007/s11892-011-0192-0.
 91. Vinik AI, Nevoret M, Casellini C, Parson H. Neurovascular function and sudorimetry in health and disease. *Curr Diab Rep*. 2013;13(4):517-532. doi:10.1007/s11892-013-0392-x.
 92. Philips JC, Marchand M, Scheen AJ. Squatting, a posture test for studying cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes. *Diabetes Metab*. 2011;37(6):489-496. doi:10.1016/j.diabet.2011.09.004.
 93. Hoitsma E, Reulen JPH, de Baets M, Drent M, Spaans F, Faber CG. Small fiber neuropathy: a common and important clinical disorder. *J Neurol Sci*. 2004;227(1):119-130. doi:10.1016/j.jns.2004.08.012.
 94. Sletten DM, Kimpinski K, Weigand SD, Low PA. Comparison of a gel versus solution-based vehicle for the delivery of acetylcholine in QSART. *Auton Neurosci*. 2010;158(1-2):123-126. doi:10.1016/j.autneu.2010.05.005.
 95. Sletten DM, Weigand SD, Low PA. Relationship of Q-sweat to quantitative sudomotor axon reflex test (QSART) volumes. *Muscle and Nerve*. 2010;41(2):240-246.

doi:10.1002/mus.21464.

96. Low PA, Caskey PE, Tuck RR, Fealey RD, Dyck PJ. Quantitative sudomotor axon reflex test in normal and neuropathic subjects. *Ann Neurol.* 1983;14(5):573-580. doi:10.1002/ana.410140513.
97. Low P a, Denq JC, Opfer-Gehrking TL, Dyck PJ, O'Brien PC, Slezak JM. Effect of age and gender on sudomotor and cardiovagal function and blood pressure response to tilt in normal subjects. *Muscle and Nerve.* 1997;20(12):1561-1568. <http://gateway.library.qut.edu.au/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cmedm&AN=9390669&site=ehost-live>.
98. Low PA. Evaluation of sudomotor function. 2004;115:1506-1513. doi:10.1016/j.clinph.2004.01.023.
99. Davis MDP, Genebriera J, Sandroni P, Fealey RD. Thermoregulatory sweat testing in patients with erythromelalgia. *Arch Dermatol.* 2006;142(12):1583-1588.
100. Low PA. Multiple system atrophy and pure autonomic failure. *Clin Auton Disord Eval Manag.* 1997:555-575.
101. Low PA, Fealey RD, Sheps SG, Su WPD, Trautmann JC, Kuntz NL. Chronic idiopathic anhidrosis. *Ann Neurol.* 1985;18(3):344-348.
102. Cohen J, Low P, Fealey R, Sheps S, Jiang N. Somatic and autonomic function in progressive autonomic failure and multiple system atrophy. *Ann Neurol.* 1987;22(6):692-699.
103. Shahani B, Halperin J, Boulu P, Cohen J. Sympathetic skin response - A method of assessing unmyelinated axon dysfunction in peripheral neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1984;47:536-542. doi:10.1136/jnnp.47.5.536.
104. Arunodaya GR, Taly AB. Sympathetic skin response: a decade later. *J Neurol Sci.* 1995;129(2):81-89.
105. Maselli RA, Jaspan JB, Soliven BC, Green AJ, Spire J, Arnason BGW. Comparison of sympathetic skin response with quantitative sudomotor axon reflex test in diabetic neuropathy. *Muscle Nerve.* 1989;12(5):420-423.
106. Drory VE, Korczyn AD. Sympathetic skin response Age effect. *Neurology.* 1993;43(9):1818.
107. Novak P. Quantitative Autonomic Testing. *J Vis Exp.* 2011;(53):1-24. doi:10.3791/2502.
108. Stewart JD, Nguyen DM, Abrahamowicz M. Quantitative sweat testing using acetylcholine for direct and axon reflex mediated stimulation with silicone mold recording; controls versus neuropathic diabetics. *Muscle Nerve.* 1994;17(12):1370-1377. doi:10.1002/mus.880171205.
109. Vilches JJ, Navarro X. New silicones for the evaluation of sudomotor function with the

- impression mold technique. *Clin Auton Res*. 2002;12(1):20-23.
110. Mandikos MN. Polyvinyl siloxane impression materials: an update on clinical use. *Aust Dent J*. 1998;43(6):428-434.
 111. Gibbons CH, Illigens BMW, Centi J, Freeman R. QDIRT: Quantitative direct and indirect test of sudomotor function. *Neurology*. 2008;70(24):2299-2304. doi:10.1212/01.wnl.0000314646.49565.c0.
 112. Siepmann T, Illigens BM-W, Reichmann H, Ziemssen T. [Axon-reflex based nerve fiber function assessment in the detection of autonomic neuropathy]. *Nervenarzt*. 2014;85(10):1309-1314. doi:10.1007/s00115-014-4120-9.
 113. Ziegler D, Laux G, Dannehl K, et al. Assessment of cardiovascular autonomic function: age-related normal ranges and reproducibility of spectral analysis, vector analysis, and standard tests of heart rate variation and blood pressure responses. *Diabet Med*. 1992;9(2):166-175.
 114. Cooke WH, Cox JF, Diedrich AM, et al. Controlled breathing protocols probe human autonomic cardiovascular rhythms. *Am J Physiol Circ Physiol*. 1998;274(2):H709-H718.
 115. Taylor JA, Myers CW, Halliwill JR, Seidel H, Eckberg DL. Sympathetic restraint of respiratory sinus arrhythmia: implications for vagal-cardiac tone assessment in humans. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2001;280(6):H2804-H2814.
 116. Angelone A, Coulter NA. Respiratory sinus arrhythmia: a frequency dependent phenomenon. *J Appl Physiol*. 1964;19(3):479-482.
 117. Pfeifer MA, Cook D, Brodsky J, et al. Quantitative evaluation of cardiac parasympathetic activity in normal and diabetic man. *Diabetes*. 1982;31(4):339-345.
 118. Eckberg DL. Human sinus arrhythmia as an index of vagal cardiac outflow. *J Appl Physiol*. 1983;54(4):961-966.
 119. Brown TE, Beightol L a, Koh J, Eckberg DL. Important influence of respiration on human R-R interval power spectra is largely ignored. *J Appl Physiol*. 1993;75(5):2310-2317.
 120. Freeman R, Cohen RJ, Saul JP. Transfer function analysis of respiratory sinus arrhythmia: a measure of autonomic function in diabetic neuropathy. *Muscle Nerve*. 1995;18(1):74-84. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7800001>.
 121. Mackay JD. Respiratory sinus arrhythmia in diabetic neuropathy. *Diabetologia*. 1983;24(0012-186X (Print)):253-256. c:%5CEMH%5CScannede artikler referanser%5CRefMan8174.pdf.
 122. Mackay JD, Page MM, Cambridge J, Watkins PJ. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetologia*. 1980;18(6):471-478.

123. Dyrberg T, Benn J, Christiansen JS, Hilsted J, Nerup J, Hospital SM. Prevalence of diabetic autonomic neuropathy measured by simple bedside tests. *Diabetologia*. 1981;20(3):190-194.
124. Smith SE, Smith SA. Heart rate variability in healthy subjects measured with a bedside computer-based technique. *Clin Sci*. 1981;61(4):379-383.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6169477.
125. Low PA, Opfer-Gehrking TL, Proper CJ, Zimmerman I. The Effect of Aging on Cardiac Autonomic and PostGanglionic Sudomotor Function. *Muscle and Nerve*. 1990;13(February):152-157.
126. Mustonen J, Lansimiest E, Uusitupa M, et al. Testing of autonomic cardiovascular regulation—methodological considerations. *Clin Physiol*. 1989;9(3):249-257.
127. Bennett T, Ph D, Farquhar IK, et al. Assessment of methods for estimating autonomic nervous control of the heart in patients with diabetes mellitus. *Diabetes*. 1978;27(12):1167-1174.
128. Espi F, Ewing DJ, Clarke BF. Testing for heart rate variation in diabetes: single or repeated deep breaths? *Acta Diabetol Lat*. 1982;19(2):175-181. doi:10.1124/dmd.105.003822.30.
129. Low PA, Zimmerman BR, Dyck PJ. Comparison of distal sympathetic with vagal function in diabetic neuropathy. *Muscle Nerve*. 1986;9(7):592-596.
130. Smith ML, Beightol LA, Fritsch-Yelle JM, Ellenbogen KA, Porter TR, Eckberg DL. Valsalva's maneuver revisited: a quantitative method yielding insights into human autonomic control. *Am J Physiol*. 1996;271(3 Pt 2):H1240-9.
131. Sandroni P, Benarroch EE, Low PA. Pharmacological dissection of components of the Valsalva maneuver in adrenergic failure. *J Appl Physiol*. 1991;71(4):1563-1567.
132. Ewing DJ, Clarke BF. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1982;285(6346):916-918.
http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1500018&tool=pmcentrez&render_type=abstract.
133. Wieling W, Van Lieshout JJ. The assessment of cardiovascular reflex activity: standardization is needed. *Diabetologia*. 1990;33(3):182-183.
134. Ten Harkel AD, Van Lieshout JJ, Van Lieshout EJ, Wieling W. Assessment of cardiovascular reflexes: influence of posture and period of preceding rest. *J Appl Physiol*. 1990;68(1):147-153.
135. Low PA, Walsh JC, Huang CY, McLeod JG. The sympathetic nervous system in diabetic neuropathy: a clinical and pathological study. *Brain*. 1975;98(3):341-356.

136. Persson A, Solders G. R-R variations, a test of autonomic dysfunction. *Acta Neurol Scand.* 1983;67(5):285-293. doi:10.1111/j.1600-0404.1983.tb04577.x.
137. O'Brien IA, O'Hare P, Corral RJ, D O IA, M Corral RJ. Heart rate variability in healthy subjects: effect of age and the derivation of normal ranges for tests of autonomic function. *Br Heart J.* 1986;55(4):348-354. doi:10.1136/hrt.57.1.109-a.
138. Vita G, Princi P, Calabro R, Toscano A, Manna L, Messina C. Cardiovascular reflex tests. Assessment of age-adjusted normal range. *J Neurol Sci.* 1986;75(3):263-274. doi:10.1016/0022-510X(86)90074-2.
139. Novak P. Assessment of sympathetic index from the Valsalva maneuver. *Neurology.* 2011;76(23):2010-2016. doi:10.1212/WNL.0b013e31821e5563.
140. Tan MP, Duncan GW, Parry SW. Head-up Tilt Table Testing: a state-of-the-art review. *Minerva Med.* 2009;100(4):329-338.
141. Borst C, Wieling W, Van Brederode JF, Hond A, De Rijk LG, Dunning AJ. Mechanisms of initial heart rate response to postural change. *Am J Physiol Circ Physiol.* 1982;243(5):H676-H681.
142. Ewing DJ, Campbell IW, Murray A, Neilson JM, Clarke BF. Immediate heart-rate response to standing: simple test for autonomic neuropathy in diabetes. *Br Med J.* 1978;1(6106):145-147.
143. Smith JJ, Porth CM, Erickson M. Hemodynamic response to the upright posture. *J Clin Pharmacol.* 1994;34(5):375-386.
144. Williamson JW, McColl R, Mathews D. Evidence for central command activation of the human insular cortex during exercise. *J Appl Physiol.* 2003;94(5):1726-1734.
145. Sprangers RL, Wesseling KH, Imholz ALT, Imholz BP, Wieling W. Initial blood pressure fall on stand up and exercise explained by changes in total peripheral resistance. *J Appl Physiol.* 1991;70(2):523-530.
146. Ewing D, Hume L, Campbell IW, Murray A, Neilson JM, Clarke BF. Autonomic mechanisms in the initial heart rate response to standing. *J Appl Physiol.* 1980;49(5):809-814.
147. Denq J-C, O'brien PC, Low PA. Normative data on phases of the Valsalva maneuver. *J Clin Neurophysiol.* 1998;15(6):535-540.
148. Korner PI, Tonkin AM, Uther JB. Reflex and mechanical circulatory effects of graded Valsalva maneuvers in normal man. *J Appl Physiol.* 1976;40(3):434-440.
149. Kirchheim HR. Systemic arterial baroreceptor reflexes. *Physiol Rev.* 1976;56(1):100-177.
150. Vogel ER, Sandroni P, Low PA. Blood pressure recovery from Valsalva maneuver in patients with autonomic failure. *Neurology.* 2005;65(10):1533-1537.

doi:10.1212/01.wnl.0000184504.13173.ef.

151. Smit AAJ, Halliwill JR, Low PA, Wieling W. Pathophysiological basis of orthostatic hypotension in autonomic failure. *J Physiol.* 1999;519(1):1-10. doi:10.1111/j.1469-7793.1999.00010.x.
152. Webster J, Newnham D, Petrie JC, Lovell HG. Influence of arm position on measurement of blood pressure. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1984;288(6430):1574-1575.
153. Sprangers RLH, Veerman DP, Karemaker JM, Wieling W. Initial circulatory responses to changes in posture: influence of the angle and speed of tilt. *Clin Physiol Funct Imaging.* 1991;11(3):211-220.
154. Imholz BPM, Dambrink JHA, Karemaker JM, Wieling W. Orthostatic circulatory control in the elderly evaluated by non-invasive continuous blood pressure measurement. *Clin Sci.* 1990;79(1):73-79.
155. Moya A, Sutton R, Ammirati F, et al. Guidelines for the diagnosis and management of syncope (version 2009): the Task Force for the Diagnosis and Management of Syncope of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2009;30(21):2631-2671. doi:10.1093/eurheartj/ehp298.
156. Jones PK, Gibbons CH. Autonomic function testing: an important diagnostic test for patients with syncope. *Pract Neurol.* 2015;15(5):346-351. doi:10.1136/practneurol-2015-001102.
157. Sealey B, Lui K. Diagnosis and management of vasovagal syncope and dysautonomia. *AACN Clin Issues.* 2004;15(3):462-477.
158. Lanier JB, Mote MB, Clay EC. Evaluation and management of orthostatic hypotension. *Am Fam Physician.* 2011;84(5):527-536.
159. Coote JH, Hilton SM, Perez-Gonzalez JF. The reflex nature of the pressor response to muscular exercise. *J Physiol.* 1971;215(3):789-804. doi:10.1113/jphysiol.1971.sp009498.
160. Mark AL, Victor RG, Nerhed C, Wallin BG. Microneurographic Studies of the Mechanisms of Sympathetic Nerve Responses to Static Exercise in Humans. *Circ Res.* 1985;57(3):461-469. doi:10.1161/01.RES.57.3.461.
161. Gandevia BYSC, Hobbs SF, Gandevia SC, Hobbs SF. Cardiovascular responses to static exercise in man: central and reflex contributions. *J Physiol.* 1990;430(1):105-117. doi:10.1113/jphysiol.1990.sp018284.
162. Winchester PK, Williamson JW, Mitchell JH. Cardiovascular responses to static exercise in patients with Brown-Séquard syndrome. *J Physiol.* 2000;527(1):193-202. doi:10.1111/j.1469-7793.2000.00193.x.

163. Sinoway L, Shenberger J, Leaman G, et al. Forearm training attenuates sympathetic responses to prolonged rhythmic forearm exercise. *J Appl Physiol.* 1996;81(4):1778 LP-1784. <http://jap.physiology.org/content/81/4/1778.abstract>.
164. Mostoufi-Moab S, Widmaier EJ, Cornett JA, Gray K, Sinoway LI. Forearm training reduces the exercise pressor reflex during ischemic rhythmic handgrip. *J Appl Physiol.* 1998;84(1):277 LP-283. <http://jap.physiology.org/content/84/1/277.abstract>.
165. Wood DL, Sheps SG, Elveback LR, Schirger A. Cold pressor test as a predictor of hypertension. *Hypertension.* 1984;6(3):301 LP-306. doi:10.1097/00007611-199503000-00010.
166. Fagius J, Karhuvaara S, Sundlöf G. The cold pressor test: effects on sympathetic nerve activity in human muscle and skin nerve fascicles. *Acta Physiol Scand.* 1989;137(3):325-334. doi:10.1111/j.1748-1716.1989.tb08760.x.
167. Fasano ML, Sand T, Brubakk a O, Kruszewski P, Bordini C, Sjaastad O. Reproducibility of the cold pressor test: studies in normal subjects. *Clin Auton Res.* 1996;6(5):249-253. doi:10.1007/BF02556295.
168. Cui J, Wilson TE, Crandall CG, Wilson TE, Crandall CG. Baroreflex modulation of muscle sympathetic nerve activity during cold pressor test in humans. 2002:1717-1723.
169. Sinski M, Lewandowski J, Abramczyk P, Narkiewicz K, Gaciong Z. Why study sympathetic nervous system. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57(Suppl 11):79-92.
170. Goldstein DS, McCarty R, Polinsky RJ, Kopin IJ. Relationship between plasma norepinephrine and sympathetic neural activity. *Hypertension.* 1983;5(4):552-559. doi:10.1161/01.hyp.5.4.552.
171. Wallin BG, Sundlof G, Eriksson B, et al. Plasma noradrenaline correlates. *Acta Physiol Scand.* 1981:69-73.
172. Eckberg DL, Rea RF, Andersson OK, et al. Baroreflex modulation of sympathetic activity and sympathetic neurotransmitters in humans. *Acta Physiol.* 1988;133(2):221-231.
173. Esler M, Jennings G, Korner P, et al. Assessment of Human Sympathetic Nervous System Activity from Measurements of Norepinephrine Turnover. 1988.
174. Esler M, Lambert G, Brunner-La Rocca HP, Vaddadi G, Kaye D. Sympathetic nerve activity and neurotransmitter release in humans: translation from pathophysiology into clinical practice. *Acta Physiol Scand.* 2003;177(3):275-284. doi:1089 [pii].
175. Grassi G, Mark A, Esler M. The Sympathetic Nervous System Alterations In Human Hypertension. *Circ Res.* 2015;116(6):976-990. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.303604.

176. Goldstein DS, Polinsky RJ, Garty M, et al. Patterns of plasma levels of catechols in neurogenic orthostatic hypotension. *Ann Neurol*. 1989;26(4):558-563.
177. Kimpinski K, Iodice V, Burton DD, et al. The role of autonomic testing in the differentiation of Parkinson's disease from multiple system atrophy. *J Neurol Sci*. 2012;317(1):92-96.
178. ILIAS I, DIVGI C, PACAK K. Current role of MIBG in the diagnosis of pheochromocytoma and medullary thyroid cancer. *Semin Nucl Med*. 2011;41(5):364-368. doi:10.1053/j.semnuclmed.2011.03.003.
179. Pawlu C, Bausch B, Reisch N, Neumann HPH. Genetic testing for pheochromocytoma-associated syndromes. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2005;66(3):178-185.
180. Teresa M, Rovere L, Pinna GD, Raczak G. Baroreflex Sensitivity : Measurement and Clinical Implications. 2008.
181. Swenne CA. Baroreflex sensitivity: Mechanisms and measurement. *Netherlands Hear J*. 2013;21(2):58-60. doi:10.1007/s12471-012-0346-y.
182. SMYTH HS, SLEIGHT P, PICKERING GW. Reflex Regulation of Arterial Pressure during Sleep in Man: A Quantitative Method of Assessing Baroreflex Sensitivity. *Circ Res*. 1969;24(1):109-121. doi:10.1161/01.RES.24.1.109.
183. Ebert TJ, Morgan BJ, Barney JA, Denahan T, Smith JJ. Effects of aging on baroreflex regulation of sympathetic activity in humans. *Am J Physiol Circ Physiol*. 1992;263(3):H798-H803.
184. Karemaker JM. Why do we measure baroreflex sensitivity the way we do? *Clin Auton Res*. 2002;12(6):427-428. doi:10.1007/s10286-002-0079-x.
185. Laude D, Elghozi J-L, Girard A, et al. Comparison of various techniques used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity (the EuroBaVar study). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004;286(1):R226-R231. doi:10.1152/ajpregu.00709.2002.
186. Fisher J, Ogoh S, Junor C, Khaja A, Northrup M, Fadel P. Spontaneous baroreflex measures are unable to detect age- related impairments in cardiac baroreflex function during dynamic exercise in humans. 2010;94(4):447-458. doi:10.1113/expphysiol.2008.044867.Spontaneous.
187. Pitzalis MV, Mastropasqua F, Passantino A, et al. Comparison Between Noninvasive Indices of Baroreceptor Sensitivity and the Phenylephrine Method in Post Myocardial Infarction Patients. *Circulation*. 1998;97(14):1362-1367. doi:10.1161/01.CIR.97.14.1362.
188. Mano T, Iwase S, Toma S. Microneurography as a tool in clinical neurophysiology to investigate peripheral neural traffic in humans. *Clin Neurophysiol*. 2006;117(11):2357-2384. doi:10.1016/j.clinph.2006.06.002.

189. Mano T. Microneurography--from basic aspects to clinical applications and application in space medicine. *Brain nerve= Shinkei kenkyu no shinpo*. 2009;61(3):227-242.
190. Donadio V, Liguori R. Microneurographic recording from unmyelinated nerve fibers in neurological disorders: An update. *Clin Neurophysiol*. 2015;126(3):437-445. doi:10.1016/j.clinph.2014.10.009.
191. Turnquist B, RichardWebster B, Namer B. Automated detection of latency tracks in microneurography recordings using track correlation. *J Neurosci Methods*. 2016;262:133-141. doi:10.1016/j.jneumeth.2016.01.004.
192. Delius W, Hagbarth K??E, Hongell A, Wallin BG. Manoeuvres Affecting Sympathetic Outflow in Human Skin Nerves. *Acta Physiol Scand*. 1972;84(2):177-186. doi:10.1111/j.1748-1716.1972.tb05168.x.
193. Delius W, Hagbarth KE, Hongell A, Wallin BG. General characteristics of sympathetic activity in human muscle nerves. *Acta Physiol Scand*. 1972;85:65-81. doi:10.1111/j.1748-1716.1972.tb05158.x.
194. Vallbo A, Hagbarth KE, Torebjork HE, Wallin BG, Vallbo B, Wallin BG. Somatosensory, proprioceptive, and sympathetic activity in human peripheral nerves. *Physiol Rev*. 1979;59(4):919-957.
195. Mano T. Autonomic neural functions in space. *Curr Pharm Biotechnol*. 2005;6(4):319-324.
196. ECKBERG DL, WALLIN BG, FAGIUS J, LUNDBERG L, TOREBJÖRK HE. Prospective study of symptoms after human microneurography. *Acta Physiol Scand*. 1989;137(4):567-569. doi:10.1111/j.1748-1716.1989.tb08804.x.
197. K. SV, E. DM, L. MA, M. AF. Sympathetic-Nerve Activity during Sleep in Normal Subjects. *N Engl J Med*. 1993;328(5):303-307. doi:10.1056/NEJM199302043280502.
198. AAN Summary of Evidence-based Guideline for Clinicians the Role of Autonomic Testing, Nerve Biopsy, and Skin Biopsy in Diagnosing Distal Symmetric Polyneuropathy. 2008.
199. Baschieri F, Calandra-Buonaura G, Doria A, et al. Cardiovascular autonomic testing performed with a new integrated instrumental approach is useful in differentiating MSA-P from PD at an early stage. *Park Relat Disord*. 2015;21(5):477-482. doi:10.1016/j.parkreldis.2015.02.011.
200. Chen J, Yang SB, Liu J, Tang ZH. Diagnostic performance analysis for diabetic cardiovascular autonomic neuropathy based on short-term heart rate variability using Bayesian methods: preliminary analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 2015;7:74. doi:10.1186/s13098-015-0070-z.

201. Lefrandt J, Gans R ZM. Autonomic Dysfunction in Diabetes: a Consequence of Cardiovascular Damage Autonomic Dysfunction in Diabetes: a Consequence of Cardiovascular Damage. *Curr Diabetes Rev.* 2010;6:1-11. doi:10.2174/157339910793499128.
202. Nayani S, Sreedharan SE, Namboodiri N, Sarma PS, Sylaja PN. Autonomic dysfunction in first ever ischemic stroke: Prevalence, predictors and short term neurovascular outcome. *Clin Neurol Neurosurg.* 2016;150:54-58. doi:10.1016/j.clineuro.2016.08.022.
203. Siepmann T, Penzlin AI, Illigens BMW. [Autonomic neuropathies--diagnosis and evidence based treatment]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2013;138(30):1529-1532. doi:10.1055/s-0033-1343270.
204. Etienne M, Weimer LH. Immune-mediated autonomic neuropathies. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2006;6(1):57-64.
205. Gibbons C, Freeman R. The evaluation of small fiber function-autonomic and quantitative sensory testing. *Neurol Clin.* 2004;22(3):683-702, vii. doi:10.1016/j.ncl.2004.03.002.
206. de Godoy MF, Takakura IT, Correa PR, Machado M de N, Miranda RC, Brandi AC. Preoperative nonlinear behavior in heart rate variability predicts morbidity and mortality after coronary artery bypass graft surgery. *Med Sci Monit.* 2009;15(3):CR117-22.
207. Coviello I, Pinnacchio G, Laurito M, et al. Prognostic role of heart rate variability in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction treated by primary angioplasty. *Cardiology.* 2013;124(1):63-70. doi:10.1159/000345779.
208. Filipovic M, Jeger R, Probst C, et al. Heart rate variability and cardiac troponin I are incremental and independent predictors of one-year all-cause mortality after major noncardiac surgery in patients at risk of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42(10):1767-1776.
209. Freeman J V, Dewey FE, Hadley DM, Myers J, Froelicher VF. Autonomic nervous system interaction with the cardiovascular system during exercise. *Prog Cardiovasc Dis.* 2006;48(5):342-362. doi:10.1016/j.pcad.2005.11.003.
210. Ushiyama T, Mizushige K, Wakabayashi H, et al. Analysis of heart rate variability as an index of noncardiac surgical stress. *Heart Vessels.* 2008;23(1):53-59. doi:10.1007/s00380-007-0997-6.
211. Rocchi C, Greco V, Urbani A, et al. Subclinical autonomic dysfunction in spinobulbar muscular atrophy (Kennedy disease). *Muscle Nerve.* 2011;44(5):737-740. doi:10.1002/mus.22159.
212. Bosmans JWAM, Jongen ACHM, Bouvy ND, Derikx JPM. Colorectal anastomotic healing:

- why the biological processes that lead to anastomotic leakage should be revealed prior to conducting intervention studies. *BMC Gastroenterol.* 2015;15(1):180. doi:10.1186/s12876-015-0410-3.
213. Pommergaard H-C. Experimental evaluation of clinical colon anastomotic leakage. *Dan Med J.* 2014;61(3):B4821. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24814921>.
 214. Hyman NH. Managing anastomotic leaks from intestinal anastomoses. *Surg.* 2009;7(1):31-35.
 215. Murrell ZA, Stamos MJ. Reoperation for anastomotic failure. *Clin Colon Rectal Surg.* 2006;19(4):213-216.
 216. Lubbers T, de Haan JJ, Luyer MDP, et al. Cholecystokinin/Cholecystokinin-1 Receptor-Mediated Peripheral Activation of the Afferent Vagus by Enteral Nutrients Attenuates Inflammation in Rats. *Ann Surg.* 2010;252(2). http://journals.lww.com/annalsofsurgery/Fulltext/2010/08000/Cholecystokinin_Cholecystokin_in_1.26.aspx.
 217. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *J Physiol Pharmacol.* 2011;62(6):591-599.
 218. Lankhorst S, Keet SWM, Bulte CSE, Boer C. The impact of autonomic dysfunction on peri-operative cardiovascular complications. *Anaesthesia.* 2015;70(3):336-343. doi:10.1111/anae.12904.